

Revista Chilena de Endocrinología y Diabetes

Sumario

Editorial

Artículos científicos de libre acceso en internet.
pág. 49

Artículos Originales

Estudio del control metabólico en pacientes diabéticos en hemodiálisis crónica: hemoglobina glicosilada, fructosamina y glicemias capilares.
pág. 50

Frecuencia del polimorfismo *PD-1.3* del gen del receptor de muerte celular programada 1 (*PD-1*) y su asociación con diabetes tipo 1.
pág. 55

Caracterización de línea celular de paratiroides humana (RCPTH) y evaluación de tumorigenicidad en ratones NOD/SCID.
pág. 59

Artículo de Revisión

Qué hay de nuevo en el síndrome de ovario poliquístico.
pág. 69

Carta al Editor

Transexualidad o trastorno de identidad de género. Homenaje al equipo que realizó en marzo de 1973 la primera reasignación de sexo de varón a mujer en Chile y Latinoamérica.
pág. 76

Summary

Editorial

Scientific articles free internet access.
pp. 49

Original Articles

Glycosylated hemoglobin and fructosamine as markers of metabolic control among diabetic patients on hemodialysis.
pp. 50

Frequency of polymorphism *PD-1.3* of programmed cell death 1 (*PD-1*) and their association with type 1 diabetes.
pp. 55

Characterization of human parathyroid cell line (RCPTH) and tumorigenicity evaluation in NOD/SCID.
pp. 59

Review Article

What's new in polycystic ovary syndrome.
pp. 69

Letter to the Editor

Transsexualism or gender identity disorder. Tribute to the team in March 1973 made the first sex reassignment from male to female in Chile and Latin America.
pp. 76

Revista Chilena de Endocrinología y Diabetes (Rev. chil. endocrinol. diabetes)

Fundada en Enero de 2008 como Órgano Oficial de la Sociedad Chilena de Endocrinología y Diabetes en conmemoración de sus 50 años de vida.

La Revista Chilena de Endocrinología y Diabetes, se publica trimestralmente, y contiene trabajos originales sobre temas de Endocrinología y Diabetes, en su vertiente clínica de adultos y niños, y también de Ciencias Básicas relacionadas a la disciplina.

Está incluida en al base de datos Latinex-Sistema Regional de Información en Línea para Revistas Científicas de América Latina, El Caribe, España y Portugal.

Los artículos enviados deben cumplir con los requisitos que aparecen publicados en el primer número de cada año de la Revista bajo el Título: "Instrucciones para los Autores", y que están también disponibles en la página electrónica de la Sociedad Chilena de Endocrinología y Diabetes www.soched.cl.

Los trabajos enviados son sometidos al sistema de revisión de pares; esta evaluación está a cargo del Comité Editorial Asesor y de los Editores.

Los trabajos deben enviarse a la Revista Chilena de Endocrinología y Diabetes, Bernarda Morín 488, 3^{er} piso, Providencia, Santiago.

La revista se reserva el derecho de hacer modificaciones de forma al texto sometido para su eventual publicación.

Valor de las Suscripciones:

- | | |
|---|-----------|
| - Sin costo para los Socios de la Sociedad Chilena de Endocrinología y Diabetes. | |
| - Valor de la suscripción anual para médicos no socios y profesionales de la Salud: | \$ 41.000 |
| - Valor de número suelto para médicos no socios y profesionales de la Salud | \$ 11.000 |
| - Valor de la suscripción para médicos becarios y alumnos de medicina | \$ 31.000 |
| - Valor de número suelto para médicos becarios y alumnos de medicina: | \$ 8.500 |

Todos los valores señalados precedentemente incluyen IVA.

- | | |
|---|----------|
| - Suscripciones al extranjero (Sudamérica), vía aérea: | US\$ 120 |
| - Suscripciones al extranjero (Centro y Norteamérica), vía aérea: | US\$ 120 |
| - Suscripciones al extranjero (Europa), vía aérea: | US\$ 130 |

Todo cambio de dirección deberá comunicarse oportunamente. La Revista no se responsabiliza por la pérdida de ejemplares debido al no cumplimiento de esta disposición.

Dirección Postal Revista SOCHED

Bernarda Morín 488, 3^{er} piso, Providencia, Santiago, Chile.

Tel: (56) - 02 - 2223 0386

(56) - 02 - 2753 5555

Fax: (56) - 02 - 2753 5556

E-mail: revendodiab@soched.cl

Producción

Editorial IKU Ltda.

Manquehue Sur 520 Of. 328, Las Condes.
Santiago de Chile.

Tel/Fax (2) 2212 63 84

E-mail: mcristina@editorialiku.cl

Editor

Dr. Francisco Pérez Bravo

Co-Editor Médico

Dr. Claudio Liberman G

Co-Editor Bioestadístico

Dr. Gabriel Cavada Chacón

Traducción al inglés

Dr. Daniel Bunout Barnet

Secretaria

Srta. Katterine Aravena Hernández

Comité Editorial Asesor

Dr. Fernando Cassorla G.	IDIMI/Hospital San Borja Arriarán. Universidad de Chile.
Dra. Andreína Cattani O.	Dpto. Pediatría Pontificia Universidad Católica de Chile.
Dra. Ethel Codner D.	IDIMI/Hospital San Borja Arriarán. Universidad de Chile.
Dr. Oscar Contreras O.	Dpto. Radiología. Pontificia Universidad Católica de Chile.
Dr. Carlos Fardella B.	Dpto. Endocrinología Pontificia Universidad Católica de Chile.
Dra. Cecilia Jhonson P.	IDIMI/Hospital San Borja Arriarán. Universidad de Chile.
Dra. Gladys Larenas Y.	Dpto. Endocrinología Universidad de la Frontera.
Dr. Claudio Liberman G.	Dpto. Endocrinología Hospital Clínico Universidad de Chile.
Dr. Rodrigo Macaya P.	Dpto. Ginecología Pontificia Universidad Católica de Chile.
Dr. Alberto Maiz G.	Dpto. Nutrición/Diabetes Pontificia Universidad Católica de Chile.
Dra. Elisa Marusic B.	Unidad Fisiopatología Universidad de los Andes.
Dra. Verónica Mericq G.	IDIMI/Hospital San Borja Arriarán. Universidad de Chile.
Dr. Fernando Munizaga C.	Dpto. Endocrinología Hospital San Borja Arriarán.
Dr. Santiago Muzzo B.	Dpto. Pediatría INTA, Universidad de Chile.
Dr. Pedro Pineda B.	Dpto. Endocrinología Hospital Clínico Universidad de Chile.
Dr. José A. Rodríguez P.	Dpto. Endocrinología Pontificia Universidad Católica de Chile.
Dr. José Luis Santos M.	Dpto. Nutrición/Diabetes Pontificia Universidad Católica de Chile.
Dra. María J. Serón-Ferré	Lab. Cronobiología Universidad de Chile.
Dra. Teresa Sir P.	Lab. Endocrinología y Metabolismo Hospital San Juan de Dios.
Dra. Paulina Villaseca D.	Dpto. Endocrinología Pontificia Universidad Católica de Chile.

Comité Editorial Asesor Regional

Dr. Domingo Montalvo V.	Hospital Regional Juan Noe de Arica.
Dra. Vinka Giadrosik R.	Escuela de Medicina, Universidad de Valparaíso.
Dra. Verónica Mujica E.	Facultad de Medicina. Universidad de Talca.
Dra. Sylvia Asenjo M.	Facultad de Medicina. Universidad de Concepción.
Dr. Jorge Sapunar Z.	Facultad de Medicina. Universidad de la Frontera.

Comité Editorial Asesor Internacional

Dr. Antonio Fontanellas	Centro de Investigaciones Médicas Avanzadas (CIMA). Universidad de Navarra, Pamplona. España.
Dr. Luis Mauricio Hurtado L.	Unidad de Cirugía General y Clínica de Tiroides. Hospital General de México. D.F. México.
Dr. Camilo Jiménez	Departamento de Neoplasias Endocrinas y Desórdenes Hormonales. División de Medicina Interna. The University of Texas. Anderson Cancer Center. Houston, USA.
Dr. José Alfredo Martínez	Catedrático de Nutrición. Departamento de Fisiología y Nutrición. Universidad de Navarra, Pamplona. España.
Dr. Rodolfo Rey	Centro de Investigaciones Endocrinológicas (CEDIE-CONICET), División de Endocrinología, Hospital de Niños R. Gutiérrez, Buenos Aires. Argentina.
Dr. Alfredo Reza Albarrán	Profesor de Endocrinología y Medicina Interna. Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Instituto de la Nutrición Salvador Zubirán, D.F. México.
Dr. Juan Francisco Santibáñez	Professor of Research Institute for Medical Research. University of Belgrade. Belgrado, Serbia.
Dr. Manuel Serrano-Ríos	Catedrático de Medicina Interna. Hospital Clínico San Carlos. Universidad Complutense de Madrid. España.



SOCIEDAD CHILENA DE ENDOCRINOLOGÍA Y DIABETES

Fundada el 4 de Junio de 1958.

Sociedad Filial de la Sociedad Médica de Santiago (Sociedad Chilena de Medicina Interna)

Directorio 2012 - 2014

Presidente

Dr. Gilberto González V.

Past Presidente

Dr. Néstor Soto I.

Vicepresidente

Dr. Jorge Sapunar Z.

Secretario General

Dr. Francisco Cordero A.

Tesorera

Dra. Francisca Ugarte P.

Directores

Dr. Miguel Arredondo O.	(Representante Ciencias Fundamentales)
Dra. Raquel Burrows A.	(Representante Pediatría)
Dr. Sergio Brantes G.	(Representante Área Oriente)
Dr. Patricio Davidoff G.	(Representante Clínicas Privadas y Hospitales Privados)
Dra. Beatriz Jiménez R.	(Representante Área Occidente)
Dr. Dra. Alejandra Lanús M.	(Representante Área Norte)
Dra. Victoria Novik A.	(Representante Provincia No GES)
Dr. Felipe Pollak C.	(Representante Pontificia Universidad Católica de Chile)
Dra. Paulina Silva A.	(Representante Área Centro-Sur)
Dr. Carlos Stehr G.	(Representante GES)

Invitado

Dr. Felipe Valenzuela P. (Representante Becados)

La Sociedad Chilena de Endocrinología y Diabetes está estructurada en función de Comités de Trabajo, los cuales comprenden las siguientes áreas:

Comité Científico

Comité de Investigación

Comité de Ética

Comité de Socios

Comité de Docencia

Comité Página Web

Sociedad Chilena de Endocrinología y Diabetes

Secretaría de la Presidencia: Sra. Ximena Quinteros F.

Tel. (2) 2223 0386 - (2) 2753 5555 Fax (2) 2753 5556

Bernarda Morín 488, 3^{er} piso, Providencia. Santiago, Chile

e-mail: soched@soched.cl

www.soched.cl

Contenido

Editorial

Artículos científicos de libre acceso en internet.
Francisco Pérez B.

49

Artículos Originales

Estudio del control metabólico en pacientes diabéticos en hemodiálisis crónica: hemoglobina glicosilada, fructosamina y glicemias capilares.

50

Gloria López S., María Sanzana G., Pilar Durruty A., María Sanhueza V., Fabiola Flores D., Miriam Alvo A., Leticia Elgueta S., Erico Segovia R, Patricia Gómez G, Regina Vargas R, Adolfo Blanch y Nadia Vega A.

Frecuencia del polimorfismo *PD-1.3* del gen del receptor de muerte celular programada 1 (*PD-1*) y su asociación con diabetes tipo 1.

55

Karla Vásquez O., Johana Soto S., Carolina Pizarro A., Francisca Salas P. y Francisco Pérez B.

Caracterización de línea celular de paratiroides humana (RCPTH) y evaluación de tumorigenicidad en ratones NOD/SCID.

59

Patricio Cabané T., Patricio Gac E., Marcos Ramírez P., Ricardo Rossi F., Sofía Oviedo C., Carmen Romero O., Pablo Caviedes F., Flavio Salazar-Onfray, Lorena Salazar A., Mercedes López N., Leonor Moyano S. y Raúl Caviedes O.

Artículo de Revisión

Qué hay de nuevo en el síndrome de ovario poliquístico.

69

Amanda Ladrón de Guevara H., Nataly Vantman L., Bárbara Echiburú L., Daniel Miranda S. y Teresa Sir-Petermann.

Carta al Editor

Transexualidad o trastorno de identidad de género. Homenaje al equipo que realizó en marzo de 1973 la primera reasignación de sexo de varón a mujer en Chile y Latinoamérica.

76

Enzo Devoto C.

Ética Humanismo y Sociedad

Acogida hogareña.
José Carlos Bermejo

78

Historia de la Endocrinología

Willy Gepts (1922-1991).
Francisco Pérez B.

80

Comentarios de Bioestadística

Concordancia Parte I: La estadística Kappa.
Gabriel Cavada Ch.

81

Calendario de Cursos, Simposios y Congresos

83

Content

Editorial

Scientific articles free internet access.
Francisco Pérez B.

49

Original Articles

Glycosylated hemoglobin and fructosamine as markers of metabolic control among diabetic patients on hemodialysis.

50

Gloria López S., María Sanzana G., Pilar Durruty A., María Sanhueza V., Fabiola Flores D., Miriam Alvo A., Leticia Elgueta S., Erico Segovia R, Patricia Gómez G, Regina Vargas R, Adolfo Blanch and Nadia Vega A.

Frequency of polymorphism *PD-1.3* of programmed cell death 1 (*PD-1*) and their association with type 1 diabetes.

55

Karla Vásquez O., Johana Soto S., Carolina Pizarro A., Francisca Salas P. and Francisco Pérez B.

Characterization of human parathyroid cell line (RCPTH) and tumorigenicity evaluation in NOD/SCID.

59

Patricio Cabané T., Patricio Gac E., Marcos Ramírez P., Ricardo Rossi F., Sofía Oviedo C., Carmen Romero O., Pablo Caviedes F., Flavio Salazar-Onfray, Lorena Salazar A., Mercedes López N., Leonor Moyano S. and Raúl Caviedes O.

Review Article

What's new in polycystic ovary syndrome.

69

Amanda Ladrón de Guevara H., Nataly Vantman L., Bárbara Echiburú L., Daniel Miranda S. and Teresa Sir-Petermann.

Letter to the Editor

Transsexualism or gender identity disorder. Tribute to the team in March 1973 made the first sex reassignment from male to female in Chile and Latin America.

76

Enzo Devoto C.

Ethics, Humanism and Society

Reception and Linens.
José Carlos Bermejo

78

History of Endocrinology

Willy Gepts (1922-1991).
Francisco Pérez B.

80

Comments of Biostatistics

Concordance Part I: The Kappa statistic.
Gabriel Cavada Ch.

81

Calendar of courses, symposia and meetings

83

Artículos científicos de libre acceso en internet

Scientific articles free internet access

En el ámbito de las publicaciones científicas, durante los últimos cinco años se ha generado una prolongada discusión en la definición de ciertos tipos de publicaciones denominadas de acceso abierto (open Access, OA).

Desde la masificación de internet hasta la declaración de Budapest donde se define el término OA, como aquella de disponibilidad gratuita en Internet público, permitiendo a cualquier usuario leer, descargar, copiar, distribuir, imprimir, buscar o usarlos con cualquier propósito legal, sin ninguna barrera financiera, legal o técnica, fuera de las que son inseparables de las que implica acceder a Internet mismo. Este modelo de publicaciones ha repercutido en otras modalidades de comunicación y acceso a información científica con consecuencias importantes en la industria editorial, generando controversia tanto en las clásicas empresas editoriales, como en los autores de material científico que tienen que escoger entre diversos tipos de editoriales para comunicar sus investigaciones.

Lo anterior ha generado una diversidad de debates en el ámbito científico, donde se ha tipificado a cierta clase de revistas bajo el logo “pagar por publicar”, situación que ha ido cambiando también en los últimos años. Este escenario, se ha modificado fundamentalmente por el hecho de que estas revistas OA que además cobran por publicar, han ganado un espacio importante en el sector editorial y en los sistemas de evaluación ISI dado que revistas que empezaron como OA han logrado en pocos años un “ranking” científico importante.

Es aquí donde se producen dos puntos de inflexión importantes, uno de ellos tiene relación con el tiempo de espera para publicar resultados científicos, ello es una realidad y normalmente un artículo científico puede ver la luz entre seis y diez meses desde su envío. Esto atenta muchas veces con la premura que los grupos científicos tienen en dar a conocer sus resultados en un mundo globalizado y altamente competitivo. Lo anterior ha hecho que grandes investigaciones se dirijan a este tipo de publicaciones pagadas, donde la rapidez de la revisión es el factor gravitante.

Este fenómeno ha hecho que aparezcan muchas editoriales pequeñas y en continuo crecimiento cuyo objetivo es aprovechar esta ventana del “pay per publish” ofreciendo una publicación a bajo costo. Sin embargo, existen otra serie de revistas que siendo de esta modalidad OA, mantienen una coherencia y rigurosidad en sus publicaciones que las ha hecho escalar en forma importante en términos de reconocimiento. Hay que ser cuidadoso respecto a lo que parece ser un buen negocio del “pay per publish” con la excusa del acceso gratuito (“open access”). Una parte importante de las revistas del sistema BioMed Central ya cobran a los autores (desde 2002).

Una última arista en este competitivo campo de las publicaciones científicas corresponde a una petición ingresada a la Casa Blanca en USA en mayo pasado en la plataforma ciudadana “We the People” con el título “Exigir el libre acceso a través de Internet a artículos de revistas científicas derivadas de la investigación financiada por los contribuyentes”.

Esta consulta fue respondida en febrero del año 2013 por el Jefe de Política Científica Tecnológica de USA generando apoyos y polémicas.

En términos generales la respuesta fue que el gobierno impulsaría un reglamento donde los artículos académicos producidos con presupuesto público serán de alcance general a través de Internet transcurrido un año desde su publicación en una revista científica. La medida tendrá lugar en todas las agencias del gobierno de USA que tengan un presupuesto para investigación superior a los US\$ 100 millones. Así, estas últimas deben “desarrollar planes para hacer públicos y disponibles de manera gratuita los resultados publicados de la investigación financiada federalmente”.

Esta respuesta ha vuelto a poner en el tapete científico a las revistas de las distintas disciplinas (pagadas y no pagadas) donde el fin último sea siempre asegurar la calidad del sistema, la selección de artículos, la corrección y publicación de los mismos. Este nuevo escenario de liberación de material científico en las plataformas de internet para investigaciones financiadas con fondos públicos también está siendo abordado por la Comunidad Europea, por lo que se avecina un cambio importante en diversas políticas editoriales que esperamos favorezcan a los lectores en todo el mundo.

Dr. Francisco Pérez B.
Editor

Artículo Original

Estudio del control metabólico en pacientes diabéticos en hemodiálisis crónica: hemoglobina glicosilada, fructosamina y glicemias capilares

Gloria López S.¹, María Sanzana G.¹, Pilar Durruty A.¹, María Sanhueza V.², Fabiola Flores D.², Miriam Alvo A.², Leticia Elgueta S.², Erico Segovia R.², Patricia Gómez G.¹, Regina Vargas R.¹, Alfonso Blanch² y Nadia Vega A.³

Glycosylated hemoglobin and fructosamine as markers of metabolic control among diabetic patients on hemodialysis

¹Sección de Endocrinología, Departamento de Medicina, Hospital Clínico Universidad de Chile.

²Sección de Nefrología, Departamento de Medicina, Hospital Clínico Universidad de Chile.

³Alumnos de Medicina, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Con apoyo financiero del Hospital Clínico Universidad de Chile, sin participación en el diseño del estudio ni en la elaboración del manuscrito.

Correspondencia:

Dra. M. Gabriela Sanzana G.
E-mail: mgabrielsanzana@gmail.com

Recibido: 17 de diciembre de 2012
Aceptado: 04 de abril de 2013

Background: In conditions that may change red blood cell survival, such as hemodialysis, the accuracy of A1c glycosylated hemoglobin (HbA1c) to assess metabolic control can be hampered. Other glycosylated proteins such as fructosamine, could accomplish the role of HbA1c. **Aim:** To assess if HbA1c is a good metabolic control parameter in diabetic patients on chronic hemodialysis. To compare fructosamine, HbA1c and serial capillary glucose levels in the same patients. **Material and Methods:** Patients on hemodialysis three times per week were studied. Twenty one subjects with diabetes mellitus and 10 non-diabetic patients were included (70% were male). During a period of 14 days, fasting and post prandial capillary glucose levels were measured. Venous glucose, HbA1c and fructosamine were measured at the onset and completion of the monitoring period. **Results:** Diabetic patients were older than their non-diabetic counterparts (65 and 47 years respectively, $p < 0.04$). In diabetic and non-diabetic patients respectively, capillary blood glucose levels were 161 ± 22 and 104 ± 51 mg/dl, HbA1c levels were 6.8 ± 1.2 and $5.4 \pm 0.4\%$ and fructosamine levels were 282.0 ± 126.6 and 154.6 ± 73 μ mol/L. In all patients there was a positive correlation between blood glucose, HbA1c ($r = 0.78$ $p < 0.01$) and fructosamine ($r = 0.52$, $p = 0.02$). There was a positive correlation between mean capillary glucose, HbA1c ($r = 0.77$, $p < 0.01$) and fructosamine ($r = 0.69$, $p < 0.02$). Among diabetic patients, the correlation coefficients between mean capillary glucose levels, HbA1c and fructosamine levels were 0.67 ($p < 0.01$) and 0.51 (NS), respectively. **Conclusions:** Among diabetic patients on hemodialysis fructosamine levels are not a better indicator of metabolic control than HbA1c.

Key words: Fructosamine, hemoglobin A1c, chronic renal disease, hemodialysis.

Introducción

La Nefropatía Diabética (ND) ha llegado a ser la causa más frecuente de Enfermedad Renal Crónica terminal en el mundo y en Chile alrededor de un 35,2% de los pacientes en hemodiálisis son diabéticos^{1,2}. La evaluación del control metabólico de estos pacientes igual que en todos los diabéticos se realiza con la hemoglobina glicosilada A1c (HbA1c). El nivel de HbA1c da una retrospectiva de los niveles de glucosa en sangre y es un indicador del control metabólico a mediano plazo, su valor refleja, el promedio de

los niveles plasmáticos de glucosa de los últimos 90 a 120 días³; según los valores de HbA1c se establecen las metas de control y se toman decisiones terapéuticas. La determinación de A1c es también el mejor predictor de progresión hacia complicaciones micro y macrovasculares. En los pacientes nefrópatas y en especial en los con enfermedad renal terminal en diálisis la HbA1c informa valores que no reflejarían su condición metabólica previa real⁴.

Se ha observado, que condiciones fisiológicas, como el embarazo⁵, y patológicas en las cuales se alteran las características de la hemoglobina o la vida media de los glóbulos

Artículo Original

rojos, la correlación de HbA1c con los niveles glicémicos puede verse alterada. En individuos portadores de variaciones de la hemoglobina en sus cadenas S o C, se han reportado valores altos o bajos de HbA1c⁶. Condiciones que afectan la vida media de los glóbulos rojos al disminuir el período de tiempo de exposición a la glicosilación, el porcentaje de HbA1c puede ser menor que la esperada. Esta situación se ha descrito en la anemia hemolítica, enfermedades hepáticas y en período de recuperación de pérdidas significativas de sangre. También se ha observado durante el tratamiento con eritropoyetina⁷. En condiciones que se prolonga la vida media, como en la anemia ferropénica o la anemia aplásica⁸, puede estar la HbA1c más alta que lo real. Se puede ver afectada por la exposición a substancias químicas, concentraciones altas de urea⁹ y salicilatos¹⁰, que alteran la hemoglobina, dando resultados mayores que los reales.

Los pacientes diabéticos en diálisis presentan frecuentemente anemia por deficiencia de eritropoyetina, traumatismo de los eritrocitos, aumento de la incidencia de hemorragia gastrointestinal por úlcera péptica y aumento del estrés oxidativo que produce acortamiento de la sobrevida de los glóbulos rojos, pudiendo reducirse de 120 a 70-80 días. En los períodos predialíticos aumenta el nivel de uremia, con aumento de la carbamitación de la HbA1c⁹. Durante las diálisis se agregan factores mecánicos que acortan la vida media del glóbulo rojo¹¹.

Considerando estos antecedentes y la observación clínica de pacientes diabéticos en diálisis, que muestra con alguna frecuencia discordancia entre los valores de automonitoreo glicémico y el de la HbA1c, se plantea la interrogante si la HbA1c es un buen parámetro para evaluar la condición metabólica de estos pacientes. Por otro lado, existen publicaciones en relación con la utilidad de la medición de otras proteínas glicosiladas, como es la fructosamina¹² y la albúmina glicosilada como un marcador alternativo mejor que la HbA1c en estos pacientes¹³.

Se ha discutido la real importancia del control metabólico en pacientes que tienen una sobrevida muy corta, que ingresan a diálisis en etapas de deterioro sistémico avanzado, lo cual hacía discutible la necesidad de un tratamiento que complicaba el manejo diario y presumiblemente deterioraba aún más la calidad de vida del paciente. Sin embargo, estudios recientes sugieren un efecto favorable de un buen control metabólico en la presentación de complicaciones macrovasculares y que un mal control glicémico es un predictor de mortalidad en pacientes en diálisis¹⁴⁻¹⁶ siendo por tanto muy importante contar con adecuados parámetros de evaluación.

El objetivo de este trabajo es determinar cual es mejor indicador del control glicémico para pacientes diabéticos nefrópatas en hemodiálisis, si la HbA1c o la fructosamina.

Pacientes y Método

Se realizó un estudio observacional, prospectivo y aleatorio en una cohorte de 21 pacientes diabéticos tipo 2 y 10 individuos no diabéticos con prueba de tolerancia a la glu-

cosa oral normal (PTGO), criterio ADA. Todos los sujetos estaban sometidos a hemodiálisis crónica trisemanal (período mínimo de 6 meses) en los Centros de Diálisis Santos Dumont y Hospital Clínico Universidad de Chile, Santiago.

Se excluyeron los pacientes mayores de 75 años o con antecedentes de: hemorragias o amputación en los últimos 6 meses, hospitalización por cualquier patología en los 2 meses previos, neoplasias activas o por presentar hipoalbuminemia menor de 4 mg/dl.

Todos los pacientes firmaron un consentimiento informado y el estudio contó con la aprobación del Comité de Ética del Hospital Clínico de la Universidad de Chile.

Los grupos de diabéticos y no diabéticos se evaluaron con 2 glicemias capilares por día, en ayunas y 2 h después de las comidas en horarios alternos, durante 14 días. A todos los pacientes se les determinó glicemia venosa, HbA1c, y fructosamina al inicio y al término del monitoreo.

La HbA1c fue determinada por el método inmunoquímico "Tina-quant" y la fructosamina mediante prueba colorimétrica con nitroazul de tetrazolio, con reactivos de Roche, en un autoanalizador Hitachi, ambos parámetros con un coeficiente de variación < 5%, en el Laboratorio Central del Hospital Clínico de la Universidad de Chile.

En el análisis estadístico se utilizaron medidas de posición (media) y de dispersión (desviación estándar) y las diferencias significativas con T de Student. A los parámetros expresados como % se les aplicó χ^2 o Fisher. Las relaciones entre las variables con correlación de Pearson. El nivel de significancia exigido fue $p < 0,05$.

El procesamiento de la información se hizo uso con S.P.S.S. (Statistical Package for Social Sciences).

Resultados

En la Tabla 1 se presentan las características clínicas y metabólicas de los grupos de pacientes en diálisis estudiados: diabéticos tipo 2 ($n = 21$) y no diabéticos ($n = 10$); constituidos ambos por el doble de hombres. En relación a la edad los diabéticos eran significativamente mayores, en cambio

Tabla 1. Características clínicas y metabólicas de pacientes en diálisis con diabetes y sin diabetes

	DM n = 21	No DM n = 10	p
Mujeres/Hombres	7/14	3/7	< 0,001
Edad años	65,3 ± 2,4	45,6 ± 6,5	< 0,01
IMC kg/m ²	26,7 ± 6,0	27,3 ± 4,6	NS
Glicemias capilares mg/dl	161 ± 22	104 ± 51	< 0,01
Hemoglobina total g/l	10,2 ± 1,9	11,7 ± 2,4	< 0,04
HbA1c %	6,8 ± 1,2	5,4 ± 0,5	< 0,001
Fructosamina ng/dl	282 ± 126	154 ± 73	< 0,001

DM: Diabetes Mellitus.

Artículo Original

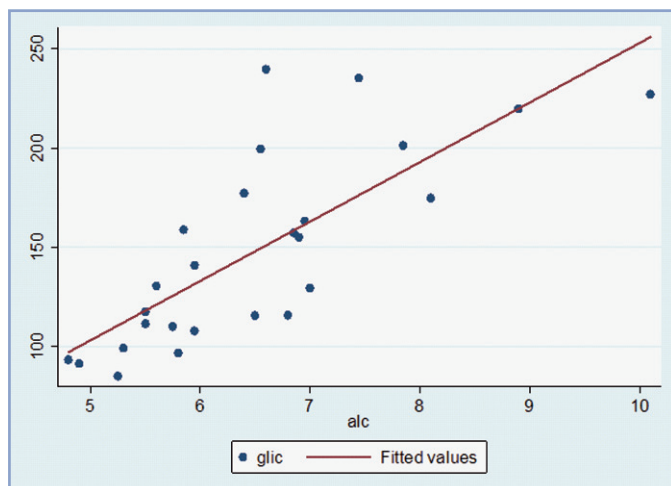


Figura 1. Correlación entre glicemias promedio y HbA1c en el grupo total.

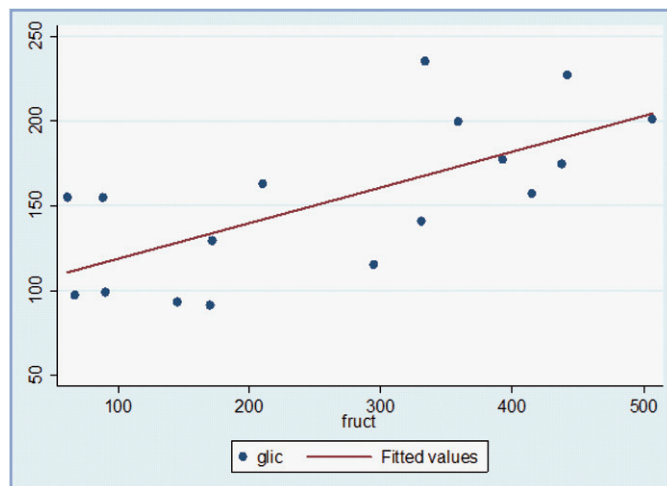


Figura 2. Correlación entre glicemias promedio y fructosaminas en la población total.

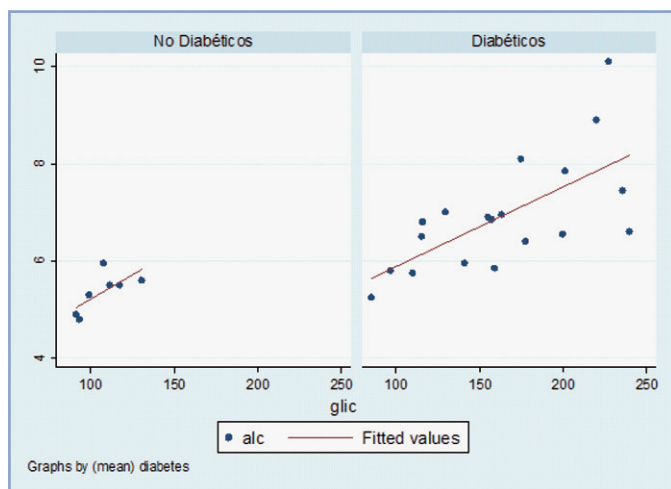


Figura 3. Correlación entre glicemias promedio y HbA1c en pacientes diabéticos.

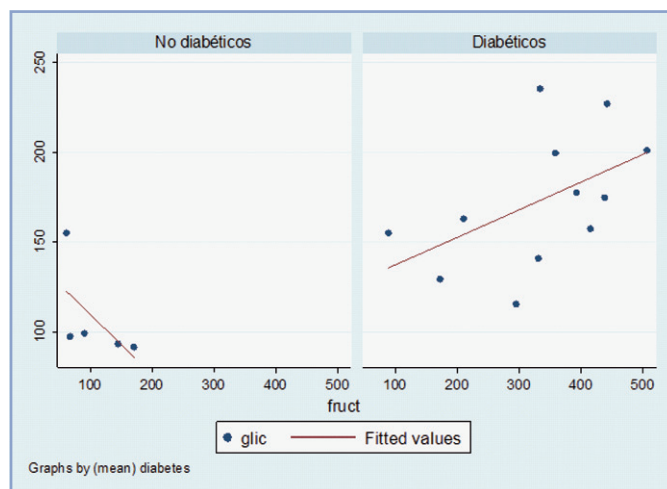


Figura 4. Correlación entre glicemias promedio y fructosamina en los pacientes.

en IMC los grupos eran comparables. Las glicemias capilares, las HbA1c y los niveles de fructosamina eran mayores ($p < 0,01$) en el grupo de pacientes diabéticos.

En el total de individuos estudiados; al analizar las relaciones de las variables se encontró una correlación positiva y significativa entre los niveles de HbA1c y los promedios de glicemias $r: 0,77$, $p < 0,0001$ (Figura 1); situación similar se presentó entre las fructosaminas y las glicemias $r: 0,69$, $p < 0,02$ (Figura 2). En los pacientes diabéticos en diálisis la determinación de la fructosamina no mostró correlación significativa con las glicemias promedio (Figura 4). La correlación de la glicemia promedio con la HbA1c en los no diabéticos es de un 69,56% $p = 0,08$ y para los diabéticos es de un 66,79% $p = 0,001$ (Figura 3). La fructosamina fue un parámetro inferior a la HbA1c para evaluar el control metabólico en los pacientes diabéticos estudiados.

Discusión

Los niveles de HbA1c son considerados actualmente el mejor indicador del grado de control glicémico en los pacientes diabéticos tipo 1 y tipo 2. Actualmente, la HbA1c ha sido recomendada por los organismos internacionales (ADA; OMS; EASD) como criterio diagnóstico de diabetes y prediabetes.

El estudio ADAG¹⁷ realizado en 509 individuos, con 2.700 determinaciones para cada sujeto en un período de 3 meses estableció la relación entre las glicemias y la HbA1c en diabéticos y no diabéticos. Esta información es utilizada ampliamente como guía por los clínicos; es así como un valor de HbA1c de 7% corresponde a glicemias promedio de 154 mg/dl y el mismo estudio demostró que cambios de un 1% de la HbA1c se relaciona con variaciones de 28-29 mg/dl de glicemias promedio.

Artículo Original

Es conocido que diferentes factores pueden modificar las concentraciones de HbA1c, de manera que la relación con las glicemias no correspondería a la anteriormente mencionada; varias condiciones afectan los niveles de HbA1c (Tablas 2 y 3), entre ellas, la enfermedad renal crónica, en la que suele aparecer Hb carbamylada y su concentración es proporcional a la concentración de urea lo que puede incrementar falsamente las concentraciones de HbA1c. Por otra parte, la mayoría de los pacientes en diálisis tienen anemia con menos glóbulos rojos y de menor supervivencia, reduciendo el tiempo que la glucosa en la sangre interactúa con la hemoglobina causando disminución de los valores de HbA1c. Frente a esta situación en otros países actualmente utilizan la albúmina glicada (AG) como parámetro de control de los pacientes diabéticos en diálisis¹⁸.

La prueba de AG, desarrollada por Asahi Kasei Pharma Corporation, mide las concentraciones de glucosa en sangre los últimos 17 días. En situaciones en las que se producen rápidos cambios en la glicemia, la AG entrega una imagen más precisa del control de la diabetes. La prueba AG está disponible en Japón, China, Corea del Sur, pero todavía no ha sido aprobada por la Food and Drugs Administration de los Estados Unidos.

Nosotros en este trabajo estudiamos la relación entre los niveles de glicemias y HbA1c, y también la relación entre la fructosamina, que mide las proteínas glicosiladas de la sangre, y las glicemias en pacientes en diálisis no diabéticos y diabéticos¹³; encontramos que en el grupo total de individuos había una relación significativa entre glicemias y HbA1c (Figura 1) y entre glicemia y fructosamina (Figura 2) siendo, por lo tanto, ambos parámetros una imagen del control glicémico de los pacientes en diálisis. En el grupo de diabéticos (Figuras 3 y 4), encontramos coeficientes de correlación para HbA1c $r = 0,67$ ($p < 0,001$) y para fructosamina 0,51 (NS); con estos resultados podemos decir que en los pacientes diabéticos en diálisis estudiados, la fructosamina fue un parámetro inferior en la estimación del control glicémico.

La confiabilidad de los valores de HbA1c en el control glicémico en individuos diabéticos con enfermedad renal crónica sigue siendo controversial. La importancia mayor está dada porque en algunos estudios se ha observado que altos valores de HbA1c se asocian a un incremento en el riesgo de muerte y de hospitalizaciones en pacientes diabéticos en hemodiálisis¹⁴, aunque otras publicaciones no detectan correlación entre los valores de HbA1c y supervivencia en pacientes dializados; de manera que es necesario disponer de un método confiable que permita determinar con exactitud el grado de control glicémico de estos pacientes¹⁶.

En algunas publicaciones se propone que los sensores de glucosa serían en este momento el mejor sistema de control metabólico de estos pacientes; sin embargo, en nuestro medio es prácticamente imposible disponer de ellos, tanto por su alto costo como por la dificultad de manejo que presentan.

La diabetes es la causa más común de enfermedad renal crónica en todo el mundo, incluido Chile y se asocia con altas tasas de mortalidad, más de 20% de los pacientes en

Tabla 2. Factores que disminuirían la HbA1c

Vitamina E
Vitamina C
Enfermedad hepática crónica
Terapia antirretroviral
Embarazo

Tabla 3. Factores que aumentarían la HbA1c

Hb carbamyladas
Hb acetiladas
Hipertrigliceridemias
Hiperbilirrubinemias
Abuso crónico de alcohol
Edad
Algunos opiáceos

diálisis fallecen cada año. Por lo tanto, es una necesidad imperiosa disponer de una prueba exacta de control glicémico para los pacientes diabéticos en diálisis. Aún se necesitan más estudios para esclarecer la confiabilidad de las distintas proteínas glicosiladas en personas diabéticas con enfermedad renal crónica. Sin embargo la HbA1c es el parámetro con que disponemos actualmente y nos da una buena aproximación del control glicémico teniendo presente el contexto clínico y de laboratorio general del paciente (albumina, hemoglobina total).

Agradecimientos

A la Dra. María Eugenia Pinto, jefa del laboratorio central del Hospital Clínico de la Universidad de Chile, a la tecnóloga médica Sra. Ana María Tong y al Dr. Juan Pablo Miranda que realizó el análisis estadístico.

Referencias bibliográficas

1. Poblete H. XXX Cuenta de hemodiálisis Crónica en Chile. Sociedad Chilena de Nefrología. Registro de diálisis. Disponible en: http://www.nefro.cl/index.php?option=com_phocadownload&view=category&id=26:xxvii-congreso-chileno-de-nefrologia-2010&Itemid=5 [Links].
2. Akmal M. 2001. Hemodialysis in Diabetic Patients, Am J Kidney Dis 38: 195-199.
3. Bunn HF, Gabbay KH, Gallop PM. 1978. The glycosilation of hemoglobin: Relevance to diabetes mellitus. Science 20: 21-27.

Artículo Original

4. Freedman BY, Shihabi ZK, Andries L, Cardona CY, Peacock TP, Byers JR, et al. 2010. Relationship between Assays of Glycemia in Diabetic Subjects with Advanced Chronic Kidney Disease Am J Nephrol 31: 375-379.
5. Nielsen LR, Ekblom P, Damm P, et al. 2004. HbA1c levels are significantly lower in early and late pregnancy. Diabetes Care 27: 1200-1201.
6. Roberts WL, Safar-Pour S, Rohlfing CL, Weycamp CW, Little RR. 2005. Effects of hemoglobin C and S traits on glycohemoglobin measurements by eleven methods. Clin Chem 51: 776-778.
7. Inaba M, Okuno S, Kumeda Y, Yamada S, Imanishi Y, Tabata T, Okamura M, et al and the Osaka CKD Expert Research Group. 2007. Glycated Albumin Is a Better Glycemic Indicator than Glycated Hemoglobin Values in Hemodialysis Patients with Diabetes: Effect of Anemia and Erythropoietin Injection J Am Soc Nephrol 18: 896-903.
8. Tarim O, Kucukerdogan A, Gunay U, Eralp O, Ercan I. 1999. Effects of iron deficiency anemia on hemoglobin A1c in type 1 diabetes mellitus. Pediatr Int 41: 357-362.
9. Chachou A, Randoux C, Millart H, Chanard J, Gillery P. 2000. Influence of *in vivo* hemoglobin carbamylation on HbA1c measurements by various methods. Clin Chem Lab Med 38: 321-326.
10. Nathan DM, Francis TB, Palmer JL. 1983. Effect of aspirin on determinations of glycosylated hemoglobin. Clin Chem 29: 466-469.
11. Randie R, Alethea L, Rohlfing C, Wiedmeyer HM, Khanna R, Goel, et al. 2002. Can Glycohemoglobin Be Used to Assess Glycemic Control in Patients with Chronic Renal Failure? Clinical Chemistry 48: 784-786.
12. Armbruster DA. 1987. Fructosamine: structure, analysis, and clinical usefulness Clin Chem 33: 2153-2163.
13. Joy MS, Cefalu WT, Hogan SL, Nachman PH. 2002. Long-Term glycemic control measurements in diabetic patients receiving hemodialysis. Am J Kidney Dis 39: 297-307.
14. Morioka T, Emoto M, Tabata T, Shoji T, Tahara H, Kishimoto H, et al. 2001. Glycemic control is a predictor of survival for diabetic patients on hemodialysis Diabetes Care 24: 909-913.
15. Rambod M, Broumand B. 2007. Glycosylated hemoglobin, glycemic control, and mortality in hemodialyzed patients Kidney International 71: 1078 (letter).
16. Hayashino Y, Fukuhara S, Akiba T, Akizawa T, Asano Y, Saito A, et al. 2007. Diabetes, glycaemic control and mortality risk in patients on hemodialysis: the Japan Dialysis Outcomes and Practice Pattern Study Diabetologia Volume 50; 6: 1170-1177.
17. Nathan D, Kuenen J, Borg R, Zheng H, Schoenfeld D, Heine R. 2008. Translating the A1C Assay Into Estimated Average Glucose Values Diabetes Care 31: 1473-1478. Does Glucose Variability Influence the Relationship Between Mean Plasma Glucose and HbA_{1c} Levels in Type 1 and Type 2 Diabetic Patients? Diabetes Care August 2011 34: 1843-1847.
18. Koga M, Kasayama I. 2010. Clinical impact of glycated albumin as another glycemic control marker. Endocrine Journal 57: 751-762.

Frecuencia del polimorfismo PD-1.3 del gen del receptor de muerte celular programada 1 (PD-1) y su asociación con diabetes tipo 1

Karla Vásquez O.¹, Johana Soto S.¹, Carolina Pizarro A.¹, Francisca Salas P.¹ y Francisco Pérez B.¹

Frequency of polymorphism PD-1.3 of programmed cell death 1 (PD-1) and their association with type 1 diabetes

Background: The programmed cell death 1 (PDCD-1) immune-receptor is a key element in the negative regulation of peripheral tolerance in T cells. The gene has several polymorphisms and can be associated with susceptibility to autoimmune diseases. **Aim:** To analyze the frequency and distribution of PD-1.3 polymorphism of PDCD-1 gene and explore its possible contribution as a susceptibility gene for type 1 diabetes (T1D). **Patients and Methods:** We analyzed 248 cases with T1D with recent diagnosis and 160 control children under 15 years of Santiago. Genetic polymorphism in PD-1 gene variant for PD-1.3 (rs 11568821) was analyzed by polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism. Comparison of genotype, allele frequency and consistency with respect to Hardy-Weinberg were analyzed using χ^2 tests and Fisher exact test. **Results:** There was a very low frequency of the genotype A/A, both in T1D patients and in controls (< 2%). The A/G genotype was more common in diabetic patients than in controls (41.6 and 18.8% respectively, $p < 0.04$). G/G genotype was more common in controls than in patients (79.4 and 56.8% respectively, $p < 0.02$). T1D patients carrying genotype G/G had a higher frequency of anti-GAD65 and anti-A-2 antibodies (81 and 67% respectively). **Conclusions:** The distribution of PD-1.3 genotype frequencies are similar to that reported elsewhere. Possibly, this genetic variant (rs 11568821) does not have an important marker role in Chilean T1D patients.

Key words: Type 1 diabetes, PDCD1 gene polymorphisms, genetic markers, autoimmunity.

¹Laboratorio de Genómica Nutricional, Departamento de Nutrición, Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Correspondencia:
Francisco Pérez Bravo
Laboratorio de Genómica Nutricional
Departamento de Nutrición.
Facultad de Medicina.
Universidad de Chile.
Avenida Independencia 1027
(Comuna de Independencia),
Santiago, Chile.
E-mail: fperez@med.uchile.cl

Recibido: 27 de noviembre de 2012
Aceptado: 20 de marzo de 2013

Introducción

La diabetes mellitus tipo 1 (DM1) constituye el trastorno endocrino-metabólico más común en la infancia y adolescencia. Su etiología es compleja e intervienen factores ambientales que interactúan con componentes de predisposición genética, lo que finalmente gatilla un irreversible proceso autoinmune que destruye las células β pancreáticas¹. Entre los múltiples factores ambientales que se han relacionado a la DM1 se encuentran las infecciones virales, algunos agentes dietarios y la hipótesis de la higiene²⁻⁷. Todos ellos conducen de alguna forma, aún desconocida, a la ruptura de la tolerancia autogénica normal generando autoinmunidad contra la célula β pancreática⁸. Entre los factores genéticos asociados a la DM1, el sistema mayor de

histocompatibilidad (HLA de clase II) ha sido el candidato principal desde hace más de tres décadas debido al papel central que juega en el proceso de reconocimiento antigénico⁹. Además de esta región HLA, se han identificado y propuesto otras 21 regiones candidatas como posibles marcadores de susceptibilidad a la DM1¹⁰. Parte de los estudios de los últimos años, han focalizado su atención en aquellos genes de regulación negativa de la respuesta inmune, es decir aquellos que operan frenando la respuesta, una vez que el antígeno ha sido destruido. Se han identificado tres regiones importantes en esta regulación negativa de los linfocitos T: CTLA-4, PTPN22 y PD-1. Para CTLA-4 existen importantes estudios que han revelado su papel como variante de susceptibilidad en diversas patologías autoinmunes^{11,12}, el gen PTPN22 que codifica para la Proteína Tirosina-Fosfatasa (LYP) también

Artículo Original

ha demostrado relevancia a través de la regulación de la respuesta del linfocito T¹³ y finalmente el gen que codifica para los receptores de muerte celular programada 1 (*PD-1*) el cual participa también en el reconocimiento de estructuras que regulan negativamente la relación entre la célula presentadora del antígeno (célula β pancreática en el caso de la DM1) y el linfocito T^{14,15}.

El gen *PD-1* y sus proteínas ligando tienen un importante rol en la inducción y/o mantención de la tolerancia periférica. A través de la interacción con sus ligandos (*PDL1* y *PDL2*), se inhibe la estimulación antigénica de las células T y B, estos ligandos pertenecen a la familia de proteínas B7 y se expresan en órganos linfoides, como no linfoides. El balance de señales inhibitorias (*PD-1* y *CTLA-4*) y de estimulación (B7) genera interacciones entre la superficie celular de los linfocitos T y las células presentadoras de antígenos y corresponden a mecanismos cruciales de la homeostasis celular de la tolerancia periférica¹⁶. El gen humano para *PD-1*, localizado en el cromosoma 2q37 presenta varios polimorfismos de nucleótido simple (SNPs) asociados con autoinmunidad: Lupus eritematoso sistémico (LES), artritis reumatoidea (AR), tiroiditis y DM1¹⁷. Los estudios de polimorfismo genético en pacientes con DM1 han mostrado resultados controversiales según la población analizada¹⁸⁻²¹. El objetivo de esta investigación fue analizar la frecuencia y posible asociación del polimorfismo *PD-1.3* con la DM1 en un grupo de pacientes chilenos.

Pacientes y Métodos

El estudio incluyó 248 pacientes con DM1 (niños y adolescentes) y 160 controles adolescentes aparentemente sanos, sin antecedentes familiares de diabetes u otras enfermedades autoinmunes (datos obtenidos mediante encuesta familiar). Las características clínicas de ambos grupos se resumen en la Tabla 1. Los controles fueron contactados de dos colegios de Santiago (comunidades de Independencia y Macul), por lo que estimamos que son comparables en términos de su estatus socio-demográfico respecto de los casos con DM1 que provienen del IDIMI, Hospital San Borja Arriarán. El protocolo de esta investigación ha sido aprobado por los comités de ética respectivos (Facultad de Medicina, Universidad de Chile y Servicio de Salud Metropolitano Central, Hospital San Borja

Arriarán). Todos los pacientes, controles y/o sus padres o tutores entregaron su consentimiento por escrito.

Extracción de ADN y determinación de polimorfismos *PD-1*

El ADN genómico se extrajo a partir de una muestra de sangre periférica (3 ml) utilizando técnicas estándares de lisis celular (Winkler, Santiago, Chile). El polimorfismo *PD-1.3* (rs11568821) se determinó a través de partidores específicos (Forward: 5'TGA TCC ACT GTG CCT TCC TTC CTG 3'; Reverse: 5'CCT CTG AAA TGT CCC TGG CAT TCT 3') y cada reacción de PCR fue realizada en 25 μ L de volumen de reacción, conteniendo 10 μ M de cada partidor, 11 μ L de ADN de cada una de las muestras, 10 mM de dNTP, 5 μ L de Buffer NH₄SO₄, 3 μ L de Mg⁺² 25 mM, 0,2 μ L de Taq-Polimerasa y H₂O. La reacción se estandarizó en 35 ciclos a fin de desnaturar el ADN (90°C), unir los partidores (58°C) y realizar la extensión (72°C). El polimorfismo *PD-1.3* se determinó a través de fragmentos de restricción (RFLPs) y para ello se tomaron 15 μ L de cada producto de PCR que fueron incubados a 37°C durante 1 h con 0,1 U de la enzima PstI; 5 μ L de Buffer NE 10X, 0,5 μ L de BSA y 29,5 μ L de H₂O, el producto de digestión fue visualizado en geles de agarosa al 3%.

Análisis serológico de anticuerpos

Los anticuerpos anti-GAD65 y anti-IA2 fueron determinados mediante inmunoensayo enzimático (ELISA) con el uso de kits comerciales (Medizym® Diagnostic, Berlín, Germany). Esta detección de anticuerpos es semi-cuantitativa y establece puntos de corte frente a una curva de calibración considerando, como referencia el valor de 5 UI/mL para GAD65 y 10 UI/mL para IA2. Aquellas muestras con un título mayor o igual a dicho valor fueron consideradas muestras positivas. Se obtuvo una sensibilidad y especificidad del 92,3% y 98,6% para anti-GAD65 y de 75% y 98% para anti-IA-2.

Análisis estadístico

Las comparaciones de frecuencia alélicas y genotípicas entre casos y controles fueron analizadas mediante las pruebas de χ^2 y Prueba exacta de Fisher utilizando el programa SHE-SIS (URL: <http://202.120.7.14/analysis/myAnalysis.php>). Se evaluó la concordancia de las frecuencias genotípicas con respecto al equilibrio de Hardy-Weinberg por χ^2 . Las comparaciones de las variables continuas del estudio se realizaron mediante prueba t de Student, la comparación de anticuerpos a través de test de proporciones. Un valor de $p < 0,05$ fue considerado como estadísticamente significativo.

Resultados

La Tabla 2 muestra la distribución observada para el polimorfismo *PD-1.3*. Existe una muy baja frecuencia del genotipo A/A tanto en pacientes con DM1 como en controles (1,6% y 1,8% respectivamente). Esta baja frecuencia es

Tabla 1. Características clínicas e inmunológicas de los grupos de estudio

	Casos (n = 248)	Controles (n = 160)
Edad (años)	9,5 $\pm$ 4,1	15,6 $\pm$ 4,2
Edad de diagnóstico (años)	6,1 $\pm$ 3,5	-
Total de anticuerpos positivos (%)	70,9	1,25
Anti-GAD65 (%)	77,4	0,625
Anti-IA-2 (%)	64,5	0,625

Artículo Original

concordante con los datos provenientes de otros estudios donde se informa de la misma baja frecuencia. El genotipo heterocigoto A/G muestra diferencias al comparar ambos grupos, 41,6% de los pacientes con DM1 son portadores de este genotipo vs el 18,8% presente en controles ($p < 0,04$). El polimorfismo G/G también mostró diferencias, siendo muy frecuente en la población control con un 79,4% vs un 56,8% en pacientes con DM1 ($p < 0,02$). Como consecuencia de esta distribución genotípica, la frecuencia del alelo G es significativamente mayor en controles (88,7% vs 77,6%, $p < 0,05$). Lamentablemente, el análisis de este polimorfismo no se muestra en equilibrio de Hardy-Weinberg, situación que también ya ha sido descrita en los estudios publicados para esta variante.

Finalmente, la Tabla 3 muestra los resultados del estudio de asociación entre genotipos *PD-1.3* y marcadores inmunológicos característicos de la DM1. Dada la baja frecuencia del genotipo A/A el resultado es solamente referencial, puesto que su baja distribución impide realizar comparaciones. Sin embargo, para los genotipos A/G y G/G se observa una mayor frecuencia de anticuerpos positivos. El genotipo G/G se asocia a un porcentaje mayor de anti-GAD65 (85,1%) y al mayor porcentaje de anti-IA-2 (66,6%).

Discusión

Dado el importante papel que tienen las moléculas de inmuno-regulación negativa en la proliferación de células T, tanto la molécula PD-1 como CTLA-4 han sido objeto de innumerables estudios en los últimos 10 años con el fin de establecer su relación con patologías de origen autoinmune^{11,13,22}. Existe en la literatura un amplio número de publicaciones en relación a CTLA-4, sin embargo, los estudios que involucran a PD-1 son de menor cuantía. Al respecto, la información publicada respecto a la posible asociación de este polimorfismo en la DM1 es limitada y controversial¹⁸⁻²³.

Nuestro estudio mostró que el polimorfismo *PD-1.3* y en especial el genotipo G/G no estaría asociado a la enfermedad, ya que éste resultó ser más frecuente entre los controles. No obstante, cuando se analizó este genotipo en el contexto de la autoinmunidad entre los pacientes con DM1, fue posible observar que este genotipo se encuentra asociado a un mayor patrón autoinmune. Esta situación ya ha sido descrita en otras enfermedades autoinmunes²⁴.

Nuestros resultados de distribución del polimorfismo *PD-1.3* están más próximos a los observados en población europea, no así a las frecuencias que muestran grupos asiáticos. La muy baja frecuencia observada para uno de los polimorfismos (A/A) también ha sido descrita en diferentes etnias y en distintas patologías autoinmunes tales como la Enfermedad de Graves, Enfermedad de Addison y Lupus²⁵⁻²⁷.

Hay dos aspectos importantes a considerar en este estudio, uno de ellos es el tamaño de la muestra y su procedencia. Sin embargo, esto ha sido reportado en la mayoría de los estudios. Al respecto, creemos que nuestra muestra no presenta

Tabla 2. Distribución de frecuencias genotípicas y alélicas para el polimorfismo *PD-1.3* en ambos grupos

Polimorfismo	DM1 (n = 248)		Control (n = 160)		p-value
	n	Frec.	n	Frec.	
<i>PDCD 1.3</i>					
A/A	4	0,016	3	0,018	NS
A/G	103	0,416	30	0,188	0,04
G/G	141	0,568	127	0,794	0,02
% alelo A	22,4		11,3		
% alelo G	77,6		88,7		0,05

H-W equilibrium $p < 0,01$.

Tabla 3. Distribución de anticuerpos anti-GAD65 y anti-IA-2 en los 248 pacientes con DM1 de acuerdo al genotipo *PD-1.3*

Genotipo	Anti-GAD65		Anti-IA-2	
A/A (n = 4)	2	50,0%	1	25,0%
A/G (n = 103)	70	67,9%	65	63,1%
G/G (n = 141)	120	85,1%	94	66,6%

un sesgo de selección, es decir que los pacientes y controles no sean representativos de la población chilena, dado que están seleccionadas de lugares comparables y representan a población pediátrica y adolescente del sector medio-bajo de nuestra población. Sin embargo, la baja frecuencia de una de las variantes genotípicas (A/A) hace predecible un desvío del equilibrio²⁸.

Los resultados obtenidos por este estudio, no mostraron asociación genotípica del polimorfismo *PD-1.3* con DM1. No obstante, dentro del grupo con DM1 el genotipo G/G parece relacionarse con una mayor frecuencia de autoinmunidad (mayor frecuencia de anti-GAD y anti-IA-2). El polimorfismo *PD-1.3* del gen *PDCD1* es uno de los pocos polimorfismos funcionales descritos para este gen, dentro de más de 130 polimorfismos, es decir que la sustitución nucleotídica es capaz de producir un cambio en el marco de lectura de la proteína, esto podría relacionarse tal vez con una mayor reactividad celular (situación no abordada por este estudio) y repercutir en un mayor patrón de autoinmunidad. En este nuevo escenario, los estudios dirigidos a la caracterización de otros polimorfismos funcionales en la regulación negativa de la célula T podrían tener en el futuro una relevancia importante para entender los mecanismos que alteran la tolerancia inmunológica.

Agradecimientos

Los autores agradecen la colaboración de todos los niños y sus familias participantes en este estudio en especial al Hospital San Borja-Arriarán. Esta investigación fue financiada con el proyecto FONDECYT 1100075.

Artículo Original

Referencias bibliográficas

1. Van Belle TL, Coppieters KT, von Herrath MG. 2011. Type 1 diabetes: etiology, immunology and therapeutic strategies. *Physiol Rev* 91: 79-118.
2. Van der Werf N, Kroese F, Rozing J, Hillebrands JL. 2007. Viral infections as potential triggers of type 1 diabetes. *Diab Metab Res Rev* 23: 169-183.
3. Lefebvre D, Powell K, Strom A, Scott F. 2006. Dietary Proteins as Environmental Modifiers of Type 1 Diabetes Mellitus. *Ann Rev Nutr* 26: 175-202.
4. Gale EA. 2002. A missing link in the hygiene hypothesis? *Diabetologia* 45: 588-594.
5. Norris JM, Barriga K, Klingensmith G, Hoffman M, Eisenbarth GS, Erlich HA, Rewers M. 2003. Timing of initial cereal exposure in infancy and risk of islet autoimmunity. *JAMA* 290: 1713-1720.
6. MacFarlane AJ, Strom A, Scott FW. 2009. Epigenetics: deciphering how environmental factors may modify autoimmune type 1 diabetes. *Mamm Genome* 20: 624-632.
7. Javierre BM, Hernando H, Ballestar E. 2011. Environmental triggers and epigenetic deregulation in autoimmune disease. *Discov Med* 12: 535-545.
8. Zhang L, Eisenbarth GS. 2011. Prediction and prevention of Type 1 diabetes mellitus. *J Diabetes* 3: 48-57.
9. Pociot F, Akolkar B, Concannon P, Erlich HA, Julier C, Morahan G, et al. 2010. Genetics of Type 1 Diabetes: What's Next? *Diabetes* 59: 1561-1571.
10. Concannon P, Rich S, Nepom GT. 2009. Genetics of type 1A diabetes. *N Engl J Med* 360: 1646-1651.
11. Vaidya B, Pearce S. 2004. The emerging role of the CTLA-4 gene in autoimmune endocrinopathies. *Eur J Endocrinol* 150: 619-626.
12. Ueda H, Howson JM, Espósito L, Heward J, Snook H, Chamberlain G, et al. 2003. Association of the T-cell regulatory gene CTLA-4 with susceptibility to autoimmune disease. *Nature* 423: 506-511.
13. Vang T, Miletic AV, Arimura Y, Tautz L, Rickert RC, Mustelin T. 2008. Protein tyrosine phosphatases in autoimmunity. *Ann Rev Autoimmunity* 26: 29-55.
14. Keir ME, Butte MJ, Freeman GJ, Sharpe AH. 2008. PD-1 and its ligands in tolerance and immunity. *Ann Rev Immunol* 26: 677-704.
15. Sharpe AH, Wherry EJ, Ahmed R, Freeman GJ. 2007. The function of programmed cell death 1 and its ligands in regulating autoimmunity and infection. *Nat Immunol* 8: 239-245.
16. Okazaki T, Honjo T. 2007. PD-1 and PD-1 ligands: from discovery to clinical application. *Int Immunol* 19: 813-824.
17. Okazaki T, Honjo T. 2006. The PD-1-PD-L pathway in immunological tolerance. *TRENDS in immunology* 27: 195-201.
18. Asad S, Nikamo P, Torn C, Landin-Olsson M, Lernmark A, Alarcón-Riquelme M, Kockum I. 2007. No evidence of association of the PDCD1 gene with type 1 diabetes. *Diabet Med* 24: 1473-1477.
19. Nielsen C, Hansen D, Husby S, Jacobsen BB, Lillevang ST. 2003. Association of a putative regulatory polymorphism in the PD-1 gene with susceptibility to type 1 diabetes. *Tissue Antigens* 62: 492-497.
20. Ni R, Ihara K, Miyako K, Kuromaru R, Inuo M, Kohno H, Hara T. 2007. PD-1 gene haplotype is associated with the development of type 1 diabetes mellitus in Japanese children. *Hum Genet* 121: 223-232.
21. Hiromine Y, Ikegami H, Fujisawa T, Nojima K, Kawabata Y, Noso S, et al. 2007. Trinucleotide repeats of programmed cell death-1 gene is associated with susceptibility to type 1 diabetes mellitus. *Metabolism* 56: 905-909.
22. Riley J, June C. 2006. The road to recovery: translating PD-1 biology into clinical benefit. *TRENDS in immunology* 28: 48-50.
23. Fichna M, Zurawek M, Januszkiewicz-Lewandowska D, Fichna P, Nowak J. 2010. PTPN22, PDCD1 and CYP27B1 polymorphisms and susceptibility to type 1 diabetes in Polish patients. *Int J Immunogenetics* 37: 367-372.
24. Juran BD, Atkinson EJ, Schlicht EM, Fridley BL, Petersen GM, Lazaridis KN. 2008. Interacting alleles of the coinhibitory immunoreceptor genes cytotoxic T-lymphocyte antigen 4 and programmed cell-death 1 influence risk and features of primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 47: 563-574.
25. Lin SC, Yen JH, Tsai JJ, Tsai WC, Ou TT, Liu HW, Chen CJ. 2004. Association of a programmed death 1 gene polymorphism with the development of rheumatoid arthritis, but not systemic lupus erythematosus. *Arthritis & Rheumatism* 50: 770-775.
26. Thorburn CM, Prokunina-Olsson L, Sterba KA, Lum RF, Seldin MF, Alarcón-Riquelme ME, Criswell LA. 2007. Association of PDCD1 genetic variation with risk and clinical manifestations of systemic lupus erythematosus in a multiethnic cohort. *Genes Immunol* 8: 279-287.
27. Sutherland A, Davies J, Owen CJ, Vaikakara S, Walker T, Cheetham D, et al. 2010. Genomic polymorphism at the interferon induced helicase (IFIH1) locus contributes to Grave's disease susceptibility. *J Clin Endocrinol Metab* 92: 3338-3341.
28. Flores S, Beems M, Oyarzún A, Carrasco E, Pérez-Bravo F. 2010. Programmed cell death 1 (PDCD1) gene polymorphisms and type 1 diabetes in Chilean children. *Rev Med Chile* 138: 543-550.

Caracterización de línea celular de paratiroides humana (RCPTH) y evaluación de tumorigenicidad en ratones NOD/SCID

Patricio Cabané T. MD/PhD¹, Patricio Gac E. MD¹, Marcos Ramírez P.², Ricardo Rossi F. MD¹, Sofía Oviedo C. MD³, Carmen Romero O. BQ³, Pablo Caviedes F. MD/PhD⁵, Flavio Salazar-Onfray PhD⁶, Lorena Salazar A. PhD, Mercedes López N. MD/PhD⁶, Leonor Moyano S. MD⁷ y Raúl Caviedes O. MD⁵

Characterization of human parathyroid cell line (RCPTH) and tumorigenicity evaluation in NOD/SCID

Background: Cell therapy could be an alternative for the treatment of hypoparathyroidism. Therefore efforts have been made to establish a cell line of parathyroid cells. **Aim:** To establish a continuous functional and non-tumorigenic human parathyroid cell line. **Material and Methods:** Nineteen tissue samples from 15 patients subjected to parathyroidectomy due to primary or secondary hyperparathyroidism were obtained. Functional, morphological and tumorigenic properties of the obtained cells were analyzed. **Results:** After two months of culture in conditions of immortalization, cells had an exponential growth without experiencing senescence. Therefore, more than 200 sub cultures have been performed. The cell line was denominated RCPTH. Morphological characterization showed monolayer growth with contact inhibition and a duplication time of 30 hours. On light microscopy, pleomorphism and low number of mitoses were observed. Cells accumulated glycogen, expressed calcium sensing receptor and had positive PTH cytoplasmic clusters. The line secreted PTH initially but subsequently, PTH production became undetectable. The cell line did not have tumor or metastatic growth. **Conclusions:** A parathyroid cell line has been established. The lack of PTH production is a problem that will require the search for mechanisms to activate it.

Key words: Parathyroid cell line, tumorigenic, cellular study.

¹Cirugía Endocrina, Cabeza y Cuello y Oncológica General, Hospital Clínico Universidad de Chile.

²Doctorado en Ciencias Biomédicas.

³Sección Endocrinología, Departamento Medicina, Hospital Clínico Universidad de Chile.

⁴Laboratorio Endocrinología y Biología de la Reproducción, Hospital Clínico Universidad de Chile.

⁵Laboratorio de Terapia Celular, ICBM, Facultad de Medicina Universidad de Chile.

⁶Laboratorio de Inmunología Antitumoral, ICBM, Facultad de Medicina Universidad de Chile.

⁷Departamento de Anatomía Patológica, Hospital Clínico Universidad de Chile.

Correspondencia:

Patricio Cabané Toledo, MD/PhD

E-mail: patriciocabane@sqin.cl

www.sqin.cl / www.paratiroides.cl

Recibido: 30 de enero de 2013

Aceptado: 10 de abril de 2013

Introducción

El hipoparatiroidismo permanente ocurre en un 0,2 a 4% de las cirugías de tiroides¹.

El tratamiento de esta secuela postoperatoria puede ser médico o quirúrgico. El tratamiento médico considera la administración de calcio y vitamina D a permanencia y en algunos casos incluso el uso de diuréticos. El tratamiento quirúrgico a su vez puede ser intraoperatorio o post-operatorio. El primero consiste en realizar un autotrasplante de glándulas resecadas o dañadas (con 99% efectividad), mientras que en el tratamiento quirúrgico post-operatorio se intenta un autotrasplante de tejido criopreservado del mismo paciente que tiene el inconveniente de que su efectividad disminuye a

50% y se debe contar con un Banco de Criopreservación de Paratiroides. Sin embargo, no siempre es posible contar con el tejido paratiroideo del paciente, por lo que otra alternativa quirúrgica es el alotrasplante utilizando tejido paratiroideo de pacientes intervenidos por hiperparatiroidismo secundario^{2,3}.

Los aloinjertos, ya sea de células o tejidos, se han intentado sin inmunosupresión para evitar efectos adversos graves. Se ha logrado mantener una función paratiroidea normal sólo por 18 meses, hasta que los injertos son rechazados^{4,5}.

En nuestra experiencia logramos mantener niveles de PTH detectables pero subnormales por 20 meses en una paciente con hipoparatiroidismo severo al alotrasplantar tejido paratiroideo microencapsulado, durante el período de funcio-

Artículo Original

namiento del injerto se logro suspender el aporte de calcio endovenoso continuo y mejorar la calida de vida de la paciente⁶.

El establecimiento de una línea celular de paratiroides se ha intentado por muchos años con el inconveniente de que la funcionalidad se altera (secreción de PTH y respuesta a niveles de calcio extracelular) y la sobrevida no es muy prolongada (senescencia en 20 sem)^{7,8,9}.

El objetivo de este trabajo fue establecer una línea celular continua de paratiroides humana funcional y no tumorigénica y así lograr ampliar el espectro terapéutico de pacientes con hipoparatiroidismo, con la posibilidad de realizar aloinjertos con una línea celular de paratiroides humana. Con el uso de un método especial de immortalización, descrito por Caviedes R y cols 1992¹⁰, se estableció la línea RCPH la que fue caracterizada morfocinéticamente y funcionalmente, en condiciones de cultivo aislado y de cocultivo con células nodriza (Granulosa Humana). Además se evaluó sus características de proliferación y tumorigenicidad *in vitro* y tumorigenicidad *in vivo* mediante injerto en ratones inmunodeficientes (NOD/SCID).

Metodología

Durante el período inicial del estudio, se obtuvo 19 muestras de tejido de 15 pacientes paratiroidectomizados por hiperparatiroidismo primario o secundario. El estudio fue aprobado por el comité de ética de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile, y se desarrolló desde el año 2003. Se utilizó un consentimiento informado debidamente aprobado por este comité.

Se excluyó pacientes con antecedentes de infección por virus hepatitis C o B, CMV, VIH, y pacientes con sospecha de cáncer paratiroideo. Se confirmó la naturaleza benigna de las muestras por biopsia.

Las muestras fueron transportadas al laboratorio en medio DMEM/F12 (Sigma ®) a 4°C. En el laboratorio, en condiciones de esterilidad bajo campana de flujo laminar, se procedió a disgregar mecánicamente el tejido separando el estroma del parénquima. El parénquima identificado es cortado en piezas de 1 x 1 mm y disgregado enzimáticamente con colagenasa II (Worthington ®) al 0,2% incubando 30 min a 37°C. Posteriormente se disgrega por pipeteo en pipetas de vidrio, se centrifuga para lavar el medio de digestión y se siembra en placas de plástico para cultivo primario con medio DMEM/F12 suplementado con Suero Bovino Adulto 10%, Suero Fetal Bovino 5% y Gentamicina (4 µgr/ml). Para el proceso de immortalización se utilizó el método descrito anteriormente^{11,12}. En resumen, se agrega al medio de cultivo primario un medio condicionado por la línea tumoral de tiroides de rata (UCHT1) al 10%. Con esto se logra la transformación en un plazo de 1 a 8 meses.

El medio de cultivo se cambió cada 3 días o según necesidad, por viraje del marcador de pH (rojo fenol). Para los subcultivos se utilizó método enzimático con tripsina 0,2%.

Se controló los cultivos por microscopía invertida de contraste de fases.

Una vez establecido el cultivo continuo (paciente con Dg de HPT Irio-Adenoma de paratiroides) se trabajó en el Laboratorio de Cultivo Celular y en el Laboratorio de Inmunología Tumoral de la Facultad de Medicina Universidad de Chile.

La línea celular obtenida se denominó RCPH.

Evaluación de la curva de crecimiento de la línea celular continua de paratiroides humana (RCPH)

Al obtener el crecimiento continuo de la línea se sembró en placas de 6 cm de diámetro 70.000 céls/placa, en duplicado. Se contó el número de células en cámara de neubauer cada 24 h. Se realizó experimento en triplicado.

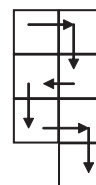
Método de evaluación de la duplicación celular

Tiempo que demora un cultivo en doblar el número de células. Contando con cámara de neubauer (conteo celular) y según método de Caviedes y cols en placas de 35 mm¹⁰.

Conteo celular: Primero se siembran 70.000 células/placa de 6 cm de diámetro en triplicado (15 placas) y se tripsiniza y cuentan las células en cámara de neubauer cada 24 h.

Método Caviedes: Se siembran las células a baja densidad en placa de 35 mm. Se marca puntos de referencia en la placa y en el microscopio. Buscando las mismas coordenadas cada vez, se cuenta el número de células por campo en días sucesivos, según el modelo y fórmula siguiente:

$$TD = (t_{\text{final}} - t_{\text{inicial}}) \times \log 2 / (\log N^{\circ} \text{ céls } t_{\text{final}} - \log N^{\circ} \text{ céls } t_{\text{inicial}})$$



Protocolo de tinción con hematoxilina-eosina

Se sembró las células RCPH a baja confluencia en placas con cubreobjetos. Se incubó con medio de cultivo DMEM/F12 hasta lograr adherencia. Se retiraron los cubreobjetos y se fijó las células con alcohol 96°. Luego se sumergieron en Hematoxilina de Harris por 2 min. Luego se elimina el exceso de tinción con alcohol ácido al 1%. Se sumerge en Eosina acuosa por 1 min y se elimina el exceso con agua corriente. Se somete los cubreobjetos a batería de alcoholes para deshidratación, se fijan y montan en placas.

Tinción de la reacción del ácido periódico de Schiff (PAS)

Las células de paratiroides humana tienen reacción PAS positiva como pocas células (musculares, renales, hepáticas)

ya que tienen un contenido de glicógeno elevado. El ácido periódico oxida los 1,2-glicoles de los tejidos transformándolos en aldehídos que se colorean con el reactivo de Schiff.

Para este experimento se incuban células RCPH sobre cubreobjetos. Primero se agrega el ácido periódico (0,5% en agua destilada) sobre las células lavadas previamente con PBS, por 5 min. Se lava con agua corriente y luego con agua destilada. Se continúa con la incubación con el reactivo de Schiff (Fucsina básica 1g, HCl N 20 ml, Bisulfato sódico anhidrico 1 g en 200 ml de agua destilada) por 15 min y luego se realizan baños de ácido sulfuroso (Metabisulfito sódico al 10% 6 ml, HCl N 5 ml en 100 ml de agua destilada) por 3 veces (2 min cada vez). Se deshidrata las células en batería de alcoholes y se monta para visualización en microscopio óptico.

Se utilizó hepatocitos de ratas Fisher 344 (línea Gerschenon) como control positivo^{12,13}.

Caracterización por inmunofluorescencia (PTH-CaSR)

Se sembró sobre cubreobjetos de vidrio en placas de 6 cm de diámetro a baja confluencia. Una vez adheridas las células se lavó las placas con PBS. Se fijó con metanol frío (-20°C) por 30 min. Se lava con PBS (3 veces, 5 min cada vez) luego se bloquea con Suero Normal de Caballo 10% por 20 min. Se lava 3 veces con PBS, y se incuba con anticuerpo primario a 4°C toda la noche. Se utilizó anticuerpo anti PTH humana (N-18) de cabra 1:100 (Santacruz Inc) y anti PTH humana de conejo 1:200 (Abcam - ab53040) y Anti CaSR (receptor de calcio sensible) Humano de ratón 1:100 (Chemicon). Luego se lava 3 veces con PBS y se incuba con anticuerpo secundario Anticabra biotinilado (20 µg/ml - Vectorlabs) y Antiraton conjugado con FITC (20 µg/ml - Vectorlabs), por 1,5 h. Se lava con PBS, se montan los cubreobjetos en portaobjetos de vidrio con medio de montaje para fluorescencia (Dako). Se observa fluorescencia en microscopio Karl Zeiss, digitalizando imágenes con cámara Cool Snap *sf*. Como control positivo se utilizó tejido paratiroideo criopreservado y cultivado de otros pacientes.

Evaluación de la función endocrina (producción y secreción de PTHi) y curva dosis/respuesta a calcio extracelular

La producción de paratohormona en el medio de cultivo se midió por radioinmunoensayo con el kit Immulite PTHi (DPC). Se sembró en placas de 6 cm de diámetro 70.000 céls/placa, en duplicado. Una vez logrado el 80% de confluencia se cambió el medio de cultivo por un medio Joklik (sin calcio) suplementado con CaCl₂ en concentraciones de 0,5 - 1 - 1,5 - 2 - 3 mM Calcio. Se incubó las placas en duplicado por cada condición por 2 h a 37°C. Luego se obtuvo muestras del medio y se congeló a -20°C para su posterior análisis. Las células fueron lisadas con buffer RIPA para medición de proteínas por el método de Bradford, para la normalización de los resultados.

Mejoramiento de condiciones de cultivo mediante cocultivo con células de granulosa humana

Al avanzar en el tiempo y número de subcultivos la línea celular RCPH bajó el nivel de producción y secreción de PTH por lo que se intentó mejorar las condiciones de cultivo para optimizar la producción y secreción de PTH.

En otros modelos endocrinos de trasplante celular, se ha intentado mejorar la sobrevivencia y función endocrina de las células en cultivo mediante técnicas de cultivo en suspensión y cocultivos¹⁴. Por ejemplo, en estudios utilizando Islotes de Langerhans para terapia de trasplante celular en diabetes mellitus se está pregonando el cocultivo de los Islotes con células nodrizas que aporten factores paracrinicos de regulación. Algunos autores han logrado mayor sobrevivencia de los Islotes y mejor respuesta de secreción de insulina al cocultivar con hepatocitos¹⁵ y con células de Sertoli^{14,16,17}. También se ha observado que esta condición de cocultivo protege a los islotes de la destrucción alo y autoinmune¹⁸. Incluso, hay experiencias preliminares de xenotrasplantes de estos conglomerados celulares microencapsulados en pacientes con Diabetes Mellitus tipo 1 (12 casos), disminuyendo los requerimientos de insulina en un 40%¹⁹.

Dentro de las líneas celulares humanas conocidas como nodrizas están las ya mencionadas células de Sertoli (utilizada en cocultivos con islotes de Langerhans) y las células de granulosa humana. De estas últimas existe una línea celular inmortalizada en nuestro laboratorio (RCGH). (Caviedes y cols. Pat. WIPO N° WO 03/065999 A2).

Se estableció condiciones de cocultivo de la línea RCPH y la línea RCGH (granulosa humana), además de condiciones de cultivo con el medio condicionado de esta última. Se determinó proliferación y tiempo de duplicación. No hubo detección de PTH.

Evaluación de proliferación

Se evaluó la proliferación de la línea celular RCPH en condiciones de cocultivo con una línea celular nodriza y a distintos porcentajes de confluencia de placa.

Se estableció el valor de porcentaje de incorporación de BrDU en condición basal y en condición de cultivo mejorado (cocultivo). Además se utilizó inmunocitoquímica anti Ki67 como marcador de proliferación utilizado ampliamente en clínica.

Incorporación de BrDU (bromodeoxiuridina)

Se utiliza células cultivadas sobre cubreobjetos a baja confluencia en triplicado en las distintas condiciones con PBS, dos veces. Se fija las células con Metanol a -20°C por 10 min (mantener a 2-8°C). Una vez seco (al aire) se pueden mantener a -20°C en caja sellada o rehidratar para continuar el procedimiento. Para rehidratar, sumergir en PBS por 3 min. Luego denaturar el DNA incubando placas en HCL 2N a 37°C por 60 min y posteriormente se neutraliza el ácido clorhídrico sumergiendo placas en Buffer Borato 0,1 M pH 8,5 (lavar 2 veces por 10 min c/u). Se lava con PBS 3 veces c/u. Para la incubación del anticuerpo primario (Anticuer-

Artículo Original

po BrDU mouse (Sigma N° cat. 2.531) diluido 1:1.000), se coloca en cámara húmeda (placa de petri con toalla secante húmeda) y se incuba con el anticuerpo primario por 60 min a T° ambiente. Se lava con PBS por 3 veces, 10 min c/u. Luego se aplica el anticuerpo secundario a dilución 1:100. Anti Mouse-FITC (VectorLabs) diluido en buffer recomendado por el fabricante (NaHCO₃ 0,1 M, pH 8,5 en NaCl 0,15 M). Se lava con PBS por 3 veces, 10 c/u y finalmente se monta con medio de montaje Dako en portaobjetos. En microscopio se cuenta el número de células totales y con tinción nuclear positiva. Se expresa el porcentaje de células positivas sobre el total. Porcentaje de proliferación.

ICQ para Ki67

Se utiliza células cultivadas sobre cubreobjetos a baja confluencia en triplicado en las distintas condiciones con PBS, dos veces. Se fija las células con Metanol a -20°C por 10 min. Para medir la presencia de Ki-67, se realizó primariamente la recuperación de los antígenos nucleares, mediante incubación en *buffer* Tris-EDTA, a pH 9, en microondas por 6 min a potencia máxima y 1 h a baja potencia. Se consideró positiva la presencia de marcación para Ki-67 en citoplasma difuso o Golgi, examinando el área de mayor confluencia, se expresa el resultado en porcentaje de células positivas sobre el total de células en 10 campos al azar.

Evaluación de tumorigenicidad

La tumorigenicidad de una línea celular continua se puede determinar por métodos *in vitro* e *in vivo*. El Estándar de la caracterización *in vitro* es la observación del crecimiento celular en condiciones de suspensión celular (sin anclaje- Crecimiento en Agar Blando). Las células tumorigénicas tendrán duplicación celular y formarán colonias, no así una línea no tumorigénica. El estándar de oro de la evaluación de tumorigenicidad *in vivo* es el injerto de la línea celular en ratones inmunocomprometidos y las observación de éstos por al menos 10 semanas.

Crecimiento en agar blando

Se utilizó esta prueba para evaluar el crecimiento celular sin anclaje, para evidenciar características tumorigénicas *in vitro*. Se agregó Agar al 0,5% suplementado con DMEM/F12 + Suero fetal bovino al 10% en placas de 3,5 cm de diámetro, se incubó a 37°C hasta gelificar. Se preparó una suspensión celular con 5x10⁵ céls/ml en agar 0,3%. Se sembró las células sobre el agar 0,5% ya gelificado y se incubó por 21 días. Cada 7 días se agregó 200 µl de medio DMEM/F12 + SFB 10% para evitar la deshidratación del agar. A los 21 días se contó el número de colonias (16-50 células) formadas en 10 campos al azar, confirmando la vitalidad con tripan blue. Se utilizó como control positivo la línea tumoral Hep2 (carcinoma epidermoide laríngeo). El experimento fue duplicado en serie.

Tumorigenicidad *in vivo*

Se utilizó la Línea Celular RCPTH en cultivos estériles libre de micoplasma. Se certificó esta condición por PCR. Se evaluó lo siguiente:

Tumorigenicidad o capacidad de la línea RCPTH de desarrollar tumores en ratones inmunodeficientes, el objetivo es determinar si la línea en un xenotrasplante (células humanas en un ratón), posee o no la capacidad de generar tumor. Se controla el tiempo que les toma generar el tumor y las características del mismo. La inoculación de la línea RCPTH fue por vía subcutánea en los flancos o bordes de la espalda del ratón.

Capacidad Metastásica de la línea RCPTH inoculada, se llevó a cabo una única inoculación por animal (3) con 1 millón de células tumorales en 150 µL de suero fisiológico estéril por vía i.v. en la vena coccígea o de la cola del animal. Para ello los animales son inmovilizados en un cepo acrílico estéril disponible en las dependencias del Bioterio de alta seguridad. La inoculación se llevó a cabo con una jeringa de tuberculina de 31G.

Animales en estudio: 24 ratones (*mus musculus*, NOD. *Cg-Prkdcscid Il2rgtm1Wjl/SzJ*, llamados NOD/SCID).

Grupo Tumorigenicidad: cuatro ratones fueron inoculados s.c. con 1x10⁶ células RCPTH en un volumen de 150 µL con una jeringa de 1 mL, 31G x 13 mm. El monitoreo del animal y del crecimiento tumoral se realizó diariamente por observación cuidadosa y luego palpación del área inyectada y medición del volumen empleando la fórmula de la elipse: $\frac{\pi}{6} \times a \times b^2$, donde a: diámetro mayor y b: diámetro menor.

Grupo Metástasis: Se inoculó vía i.v. en la cola de 2 ratones para evaluar la capacidad metastásica de la línea RCPTH. Los animales se mantuvieron en observación por 6 semanas, luego de las cuales fueron sacrificados para el procuramiento de todos los órganos sólidos toracoabdominales y consiguiente evaluación histopatológica.

Los animales serían sacrificados cuando existiera aparición de tumor de 1 cm o a las 10 sem en caso de inoculación s.c. y a las 6 semanas post-inoculación i.v. La supervisión del bienestar del animal fue llevada a cabo según las normas del *Guidelines on the recognition of pain, distress and discomfort in experimental animals and an hypothesis for assessment*)²¹.

Grupo Control: Se utilizó 2 ratones como grupo control positivo para cada condición (ratones inoculados s.c. y ratones inoculados i.v.). La línea celular de melanoma humano Mel2 (establecida en el Laboratorio de Inmunología Antitumoral) se utilizó como control positivo debido a su capacidad de generar metástasis a distancia. La cantidad de células inoculadas fue una dosis única de 1 x 10⁶ células. Para el Control Positivo de tumorigenicidad por vía s.c. se utilizó la línea PC3 (Ca Prostático humano-Laboratorio de Inmunología Antitumoral-ICBM). Como control negativo se utilizó 2 ratones para cada condición inoculando PBS 1X.

Todos los procedimientos con los ratones fueron llevados a cabo en una sala especialmente acondicionada en el bioterio Central de la Facultad de Medicina Universidad de Chile y por personal entrenado en el manejo de estos animales (Bioterio de Alta Seguridad).

Luego de sacrificados los animales, se disecó la zona injertada para obtener muestras suficientes para realizar biop-

Artículo Original

sias con tinción corriente H&E y tinción inmunohistoquímica para PTH humana (anticuerpo anti PTH humana (N-18) de cabra 1:100 - Santa Cruz Inc. Y Ac anti PTH Humana abcam ab53040) para detectar células RCPTH.

Cualquier crecimiento macroscópico sería considerado como potencial tumorigénico de la línea celular RCPTH.

En la biopsia se evaluaría mitosis por campo, infiltración tumoral, infiltración vascular y linfática, como marcadores de agresividad del tumor.

Se planificó mediciones regulares de la calcemia y niveles de PTH séricos durante el tiempo de vida de los ratones luego de recibir el injerto, mediante extracciones de sangre de la vena de la cola.

Se realizó medición de los niveles de PTHi en los medios condicionados de cultivos de la línea RCPTH previo a realizar las mediciones *in vivo*. Si no había detección no se realizaría el injerto.

Análisis estadístico

Se presentan los resultados como promedio $\pm$ SD (desviación estándar) de las distintas situaciones experimentales. Para determinar diferencias se utilizó un test no paramétrico para múltiples comparaciones (análisis de varianza, ANOVA) y luego t de Student para comparaciones entre dos grupos. Se utilizó un valor de $p < 0,05$ como significativo.

Resultados

Establecimiento línea celular

Cultivos celulares de Adenoma de Paratiroides humano con crecimiento continuo, sin senescencia. Se denominó inicialmente como PTH1 y luego se le denominó definitivamente como RCPTH, como una más de las líneas obtenidas en el laboratorio de cultivo de tejidos por el método de Caviedes y cols¹⁰ (Figura 1).

Curva de crecimiento y duplicación celular

La línea celular RCPTH tiene una curva de crecimiento exponencial y tiempo de duplicación (tiempo en que dobla el número de células en cada placa) de 30 h (Figura 2).

Tiempo de duplicación en cocultivo

Para evaluar con mayor detalle el efecto del medio condicionado de una célula nodriza (RCGH-línea celular derivada de granulosa humana) sobre las células RCPTH se consideró sólo las primeras horas (24-96 h). En este experimento se logró evidenciar una diferencia significativa del tiempo de duplicación, siendo mayor en la línea RCPTH sometida a la exposición a medio condicionado de RCGH. La diferencia es estadísticamente significativa hasta las 72 h ($p < 0,01/n = 3$). El efecto pareciera ir disminuyendo en el tiempo (Figura 3).

Tinción de la reacción del ácido periódico de Schiff (PAS)

En el organismo humano existen sólo cuatro tipos celulares que almacenan Glicógeno (músculo, riñón, hígado

y paratiroides), por lo tanto, se realizó una tinción de PAS en cultivos celulares en adhesión. Como control positivo se utilizó la línea Gerschenson (hepatocitos de rata Fisher 344). Ambas líneas celulares resultaron positivas para esta tinción. En las placas de la línea celular RCPTH se encontraron células que no resultaron positivas, que actuaron como control interno negativo (Figura 4). Estos distintos tipos celulares puede dar cuenta de la presencia de distintas poblaciones en la línea celular RCPTH (cél. oxifílicas, principales y claras).

Inmunocitoquímica (ICQ) anti PTH humana y Receptor de Calcio sensible (CaSR)

Para certificar que las células en crecimiento correspondieran a tejido paratiroideo funcional se realizó tinción de inmunohistoquímica para PTH humana y Receptor de Calcio Sensible (CaSR). En la inmunohistoquímica anti PTH se observa el característico patrón granular citoplasmático observado en las líneas primarias (Figura 5). Llamó la atención la presencia de células negativas para esta tinción (control interno negativo), que pueden corresponder a células oxifílicas o células claras. La tinción para CaSR presenta un patrón característico de membrana.

Evaluación funcionalidad

Secreción de PTH

Una vez certificada la naturaleza de las células en cultivo, vale decir, células productoras de PTH humana y con expresión del receptor CaSR en la membrana, se procedió a evaluar la funcionalidad de las mismas. Para ello se midió la concentración de PTH en el medio (PTH secretada) frente a distintas concentraciones de calcio extracelular. Es así como

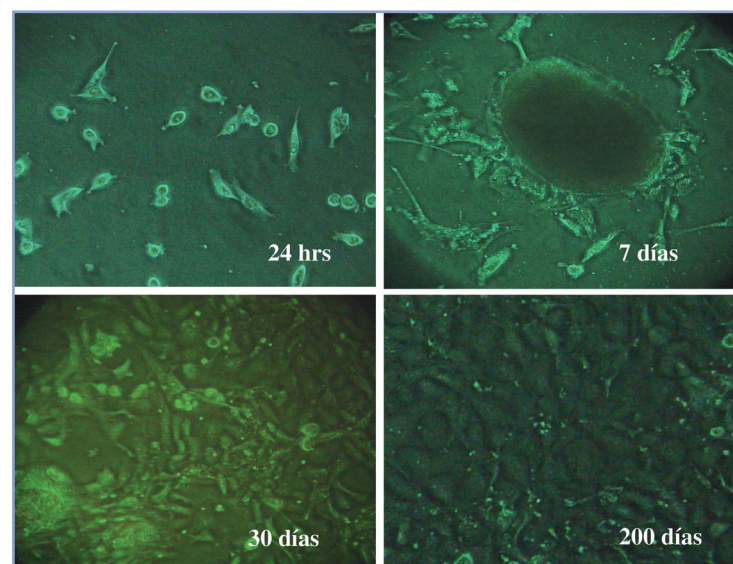


Figura 1. Se observa el crecimiento en monocapa de las células, sin sobrecrecimiento. Se evidencian mitosis aisladas. Los cultivos se pueden mantener más de 200 días en una placa sin senescencia, ni desprendimiento. Manifiestan inhibición por contacto al llegar a confluencia total.

Artículo Original

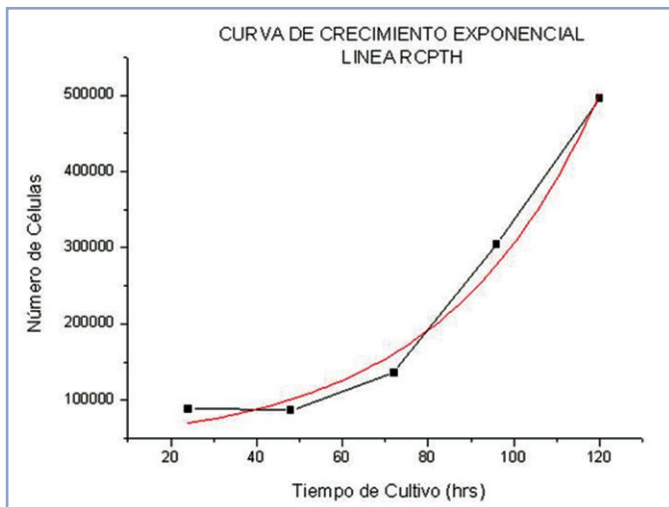


Figura 2. Curva de crecimiento de línea RCPH (línea continua de paratiroides humana).

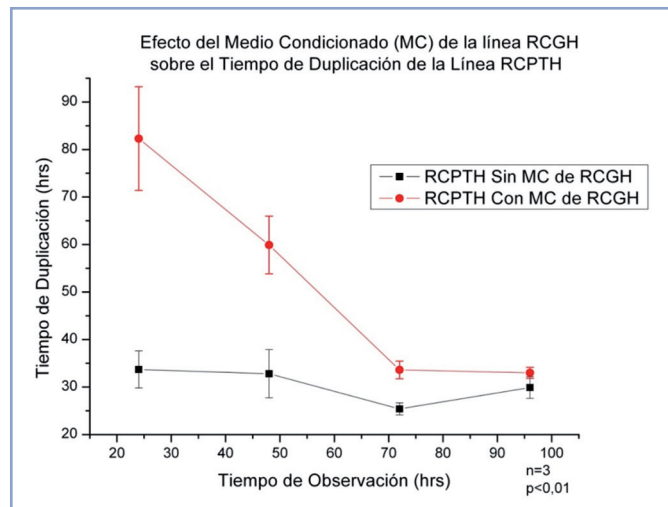


Figura 3. Tiempo de duplicación de la línea RCPH con y sin exposición al medio condicionado de la línea RCGH. La curva inferior muestra el comportamiento habitual de la línea RCPH (TD promedio de 30 h). (n = 3/p < 0,05).

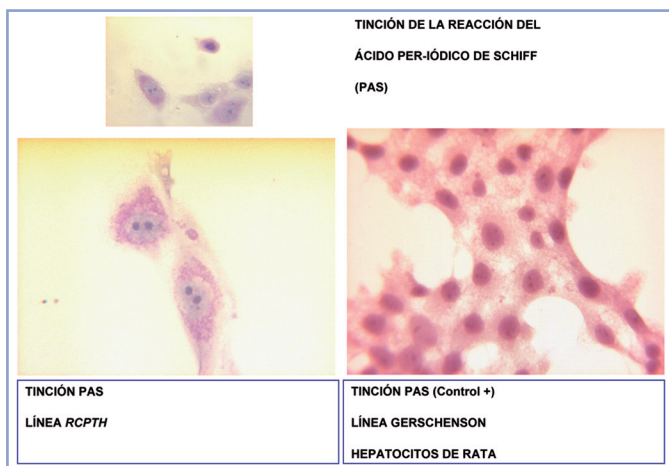


Figura 4. Tinción de la reacción de ácido periódico de Schiff (PAS). Se observa la tinción de glicógeno almacenado en el citoplasma celular. A la derecha se observa la línea de hepatocitos de rata (Gerschenson) como control positivo. 40X.

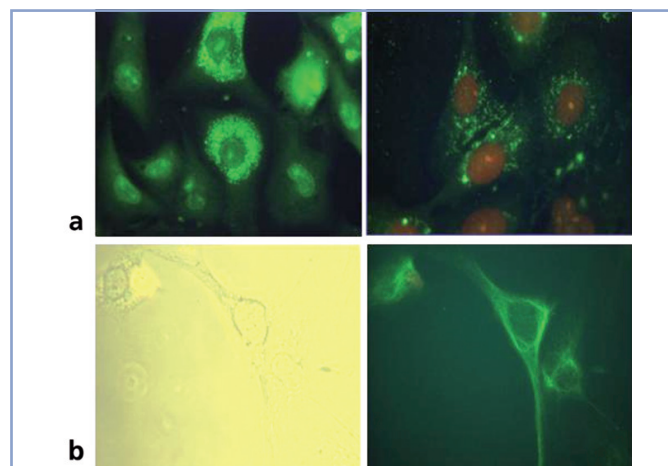


Figura 5. Tinción Inmunohistoquímica. a) PTH: a la izquierda se observa la tinción positiva para PTH de Línea celular RCPH. Llama la atención presencia de células negativas (células oxifilas, claras). A la derecha se presenta el control positivo de líneas primarias de paratiroides humana. b) CaSR: Tinción positiva para receptor de calcio sensible en células RCPH. 40X.

a las 2 h de incubación por cada condición se obtuvo los valores representados en el siguiente gráfico. Normalizados por cantidad de proteínas por placa (Figura 6).

Realizando una regresión lineal con el Software *Origin 7.0 pro*, se obtuvo la curva de tendencia (en rojo), que demuestra que a mayor concentración de calcio extracelular, menor es la secreción de PTH en el medio.

Luego de más de 200 subcultivos la línea celular comenzó a disminuir la secreción de PTH en el medio. Se realizó un experimento aislado de medición de PTHi con kit immulite (DPC)® en

medio condicionado (sobrenadante) de cultivos primarios de paratiroides humana (hiperplasia paratiroidea), cultivos de la línea RCPH y medio de cultivo sólo como blanco. Los resultados son categóricos demostrando que la línea RCPH perdió la capacidad de secreción *in vitro* (Tabla 1).

Para certificar estas mediciones, nos contactamos con la Dra. Ming Lu, del grupo de investigación liderado por el Dr. Robert Bränström del Instituto Karolinska en Suecia, quienes han realizado importantes estudios en esta área. Ellos aceptaron colaborar con nosotros y les enviamos la línea RCPH para ser estudiada en su

Artículo Original

laboratorio. Cuentan con un sistema de perfusión continua de medio, mediante el cual se pueden variar las concentraciones de Ca^{+2} y recolectar la cantidad de PTH producida por células de paratiroides.

Se utilizó 1×10^5 células RCPTH, cargadas dentro de una columna conteniendo 3/5 del volumen con gel P-4. La columna fue cuidadosamente cerrada y puesta en una incubadora a 37°C . Para perfundir la columna, se utilizó una bomba peristáltica a una velocidad de 500 $\mu\text{L}/3$ min. Antes de cada experimento se perfundió medio extracelular con 1,5 mM de Ca^{+2} y aminoácidos. Luego se perfundió Ca^{+2} a concentraciones de: 0 mM, 0,5 mM, 1,2 mM, 2,5 mM. Las muestras fueron colectadas cada 3 min y congeladas a -20°C hasta la medición de PTH. Cada experimento fue realizado por triplicado.

La medición de PTH intacta fue realizada mediante un ensayo de electroquimioluminiscencia (Roche, Cat. No. 11972219) (Tabla 2).

Valores menores a 20 son considerados negativos, por lo que se deduce que no fue posible medir secreción de PTH mediante este sistema.

Una posibilidad es que después de muchos pasajes la línea haya dejado de secretar PTH, que es concordante con nuestros resultados.

Por esta razón se intentó mejorar las condiciones de cultivo con co-cultivos. Debemos continuar en la búsqueda de las condiciones de estímulo de producción y secreción de PTH.

Pérdida de producción y secreción de PTH

La línea RCPTH ha tenido más de 200 subcultivos. En los presentes resultados no logramos detectar niveles impor-

tantes de PTHi en el medio de cultivo y tampoco evidencia de presencia de PTH intracelular. Se realizó tinción de inmunofluorescencia con Anticuerpo anti PTH humana (Abcam ab53040) con control positivo de cultivo primario de muestra de hiperplasia de paratiroides obtenido de un paciente con insuficiencia renal sometido a paratiroidectomía subtotal (Figura 7).

Evaluación proliferación

Uno de los objetivos del proyecto es evaluar la tumorigenicidad de la línea RCPTH con el fin de establecer su posible uso en terapia celular. Primero caracterizamos la proliferación *in vitro* en distintas condiciones (incorporación de BrDU con y sin modificación del medio de cultivo) y con un marcador de proliferación utilizado en clínica (Ki67).

Hasta ahora hemos visto que la línea celular tiene mitosis aisladas en la observación directa de las placas de cultivo. El porcentaje de incorporación de BrDU en condiciones es-

Tabla 1. Medición de PTHi humana por kit de radioinmunoensayo Roche® en cultivos primarios de paratiroides vs Línea RCPTH. Línea RCPTH con más de 200 subcultivos

	PTHi (pg/ml) kit Roche®
Cultivo primario hiperplasia paratiroidea	> 5.000
Línea RCPTH	14
Blanco (medio de cultivo)	18

Tabla 2. Curva dosis/respuesta de secreción de PTH vs calcio en sistema de perfusión continua (experimento realizado en Karolinska Institutet, Dra. Ming Lu)

Muestra	PTH (ng/L)	Conc. Ca^{+2}
1	17	0 mM
2	16	0,5 mM
3	17	1,2 mM
4	18	2,5 mM

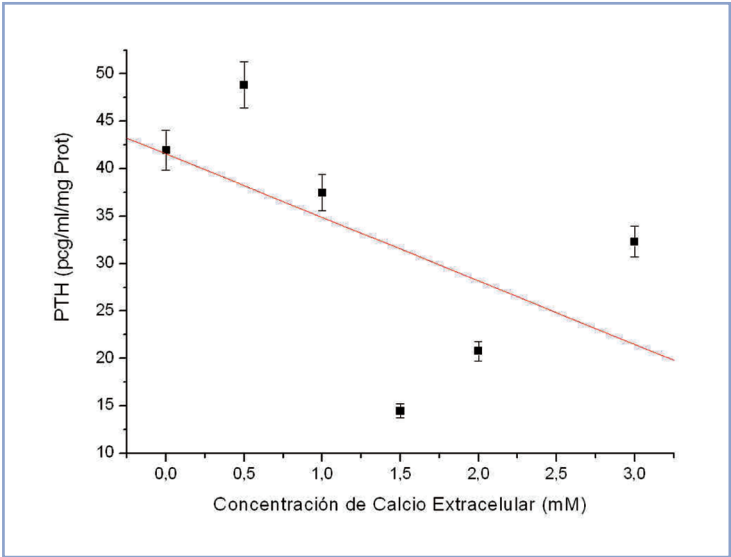


Figura 6. Curva dosis/respuesta de secreción de PTH vs concentración de calcio en el medio extracelular, Línea RCPTH. Normalizado por mg de proteínas (n = 2).

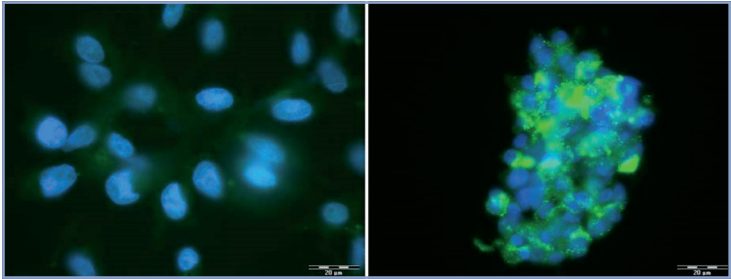


Figura 7. Inmunohistoquímica con anticuerpo Anti PTH humana (Abcam-ab53040). 40X. Marcación nuclear DAPI. Izquierda: línea RCPTH, no se observa marcación citoplasmática. Derecha: Cultivo primario de hiperplasia de paratiroides, Intensa marcación granular citoplasmática.

Artículo Original

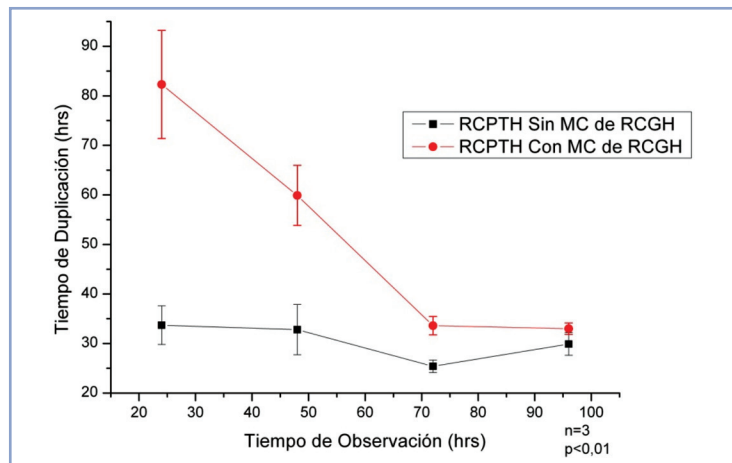


Figura 8. Tiempo de duplicación de la línea RCPH con y sin exposición al medio condicionado de la línea RCGH. La curva inferior muestra el comportamiento habitual de la línea RCPH (TD promedio de 30 h) ($n = 3/p < 0,05$).

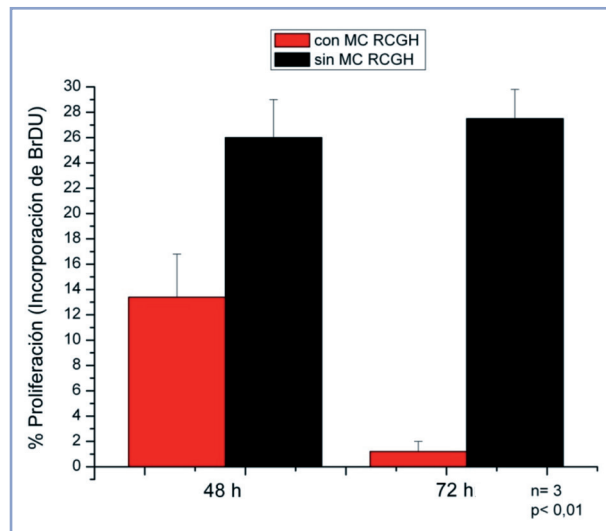


Figura 9. Proliferación de línea RCPH con y sin exposición al medio condicionado de línea RCGH. La exposición al medio condicionado de RCGH disminuye significativamente la proliferación de la línea RCPH.

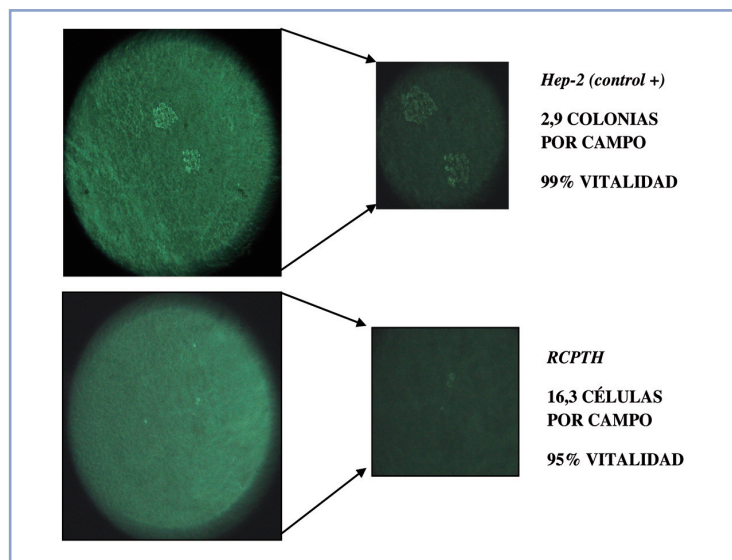


Figura 10. Crecimiento de línea celular RCPH en Agar Blando. No se observó formación de colonias en 21 días de observación. En el control positivo con línea Hep-2 se observó la presencia de 2,9 colonias por campo. 10X.

tándar no es muy elevado, concordante con la observación previa. El medio condicionado de la línea RCGH aumenta el tiempo de duplicación en las células de paratiroides humana (Figura 8). Esto se corroboró estudiando el porcentaje de células que incorporan BrDU, traduciendo que este aumento del TD es por disminución de la proliferación (Figura 9).

Evaluación tumorigenicidad in vitro e in vivo

Esta característica se evidencia mediante la observación morfocinética (*inhibición por contacto*), la proliferación celular al sembrar en geles de *agar blando* (independiente de

anclaje) y el comportamiento en el *injerto en ratas inmunosuprimidas* (nude mice o NOD/SCID).

Al permitir el crecimiento de la línea RCPH en agar blando por 21 días, no se observó el desarrollo de colonias celulares (definidos como grupos de 10 a 50 células). Como control positivo se utilizó una línea celular tumorigénica, *Hep-2* (carcinoma epidermoide laríngeo), donde sí se observó formación de colonias (aprox. 3 colonias por placa). Este experimento se realizó en duplicado en forma consecutiva. Se certificó la vitalidad de las células mediante tinción de azul tripán (Figura 10).

Se evaluó la tumorigenicidad o capacidad de la línea RCPH de desarrollar tumores en ratones inmunodeficientes NOD/SCID. La inoculación de la línea RCPH fue por vía subcutánea en los flancos y por vía i.v. en las venas laterales de la cola del animal.

Inyección subcutánea de la línea RCPH y línea control (PC3)

En el grupo de tumorigenicidad, cuatro ratones fueron inoculados s.c. con 2×10^6 células RCPH en un volumen de 200 μ L con una jeringa de 1 mL, 31 G x 13 mm. La inoculación de la línea RCPH fue por vía subcutánea en los flancos. El monitoreo del animal y del crecimiento tumoral se realizó diariamente por observación cuidadosa y luego palpación en el área inyectada. No se obtuvo crecimiento tumoral luego de 10 sem de haber inyectado las células de paratiroides. Para el grupo control se utilizaron 2 ratones como grupo control positivo en los cuales se inyectó la línea celular de cáncer de próstata PC3. La cantidad de células inoculadas fue una dosis única de 2×10^6 células. Como control negativo se utilizaron 2 ratones inoculando PBS 1X. Se observó crecimiento de tumores sólidos en el área inyectada con la línea PC3.

Artículo Original

Inyección intravenosa de la línea RCPTH (1×10^6) $n = 2$ y control (Mel2) (1×10^6) $n = 2$

Grupo Metástasis: Para determinar la capacidad metastásica de la línea RCPTH, se llevó a cabo una única inoculación por animal con 1 millón de células de la línea RCPTH (2 ratones) y un millón de células de la línea de melanoma Mel2 (2 ratones), en 100 uL de suero fisiológico estéril por vía i.v. en las venas laterales de la cola del animal. Como control negativo, se inyectó 100 uL de suero fisiológico (2 ratones). Se dio un plazo de 6 sem para luego sacrificar los animales y examinar los pulmones. No se detectó metástasis luego de seis sem de la inyección intravenosa de células RPPTH.

En el grupo control se llevó a cabo una única inoculación por animal con 1 millón de células de la línea de melanoma Mel2, en 100 uL de suero fisiológico estéril por vía i.v. en las venas laterales de la cola del animal. Fue necesario sacrificar los animales luego de 15 días de la inyección de las células de melanoma. Se observaron múltiples nódulos intra y extra pulmonares, de hasta 1 mm de diámetro de color café-negro y bordes irregulares (Figura 11).

Discusión

La obtención de una línea celular continua de paratiroides humana ha sido un objetivo difícil de conseguir durante años. Algunos autores han obtenido líneas celulares endoteliales de tejido paratiroideo, sin función endocrina⁷.

En nuestra experiencia, gracias al método de inmortalización utilizado, logramos obtener una línea celular de paratiroides humana con crecimiento exponencial, expresión del receptor de calcio sensible y producción de PTH humana intracelular. Esto certifica su naturaleza y el potencial funcional. Además se certificó la secreción de PTH humana al medio extracelular y una tendencia a la disminución si los niveles de calcio extracelular aumentan (función normal).

Sin embargo, como es habitual en las líneas celulares mantenidas en cultivo, la producción y secreción de PTH humana en la línea RCPTH disminuyó hasta ser indetectable. Se intentó establecer condiciones mejoradas de cultivo (co-cultivo con células nodriza) sin lograr establecer funcionalidad de la línea en estas condiciones. Podemos elucidar que al disminuir la proliferación celular estando en contacto con producto secretados por una célula nodriza (factores presentes en el medio condicionado de células de granulosa humana) signifique que mejora su diferenciación y posiblemente su funcionalidad endocrina, como ocurre en otros modelos celulares. Debemos corroborar esta hipótesis en proyectos futuros.

A pesar de la pérdida de la función de la línea celular RCPTH, reportamos la única línea celular humana de paratiroides con mantención de sus características por tanto tiempo de cultivo y con evidencias categóricas de que no es tumorigénica.

La Food and Drugs Administration (FDA) de EEUU exige que cualquier línea celular que se intente utilizar en terapia

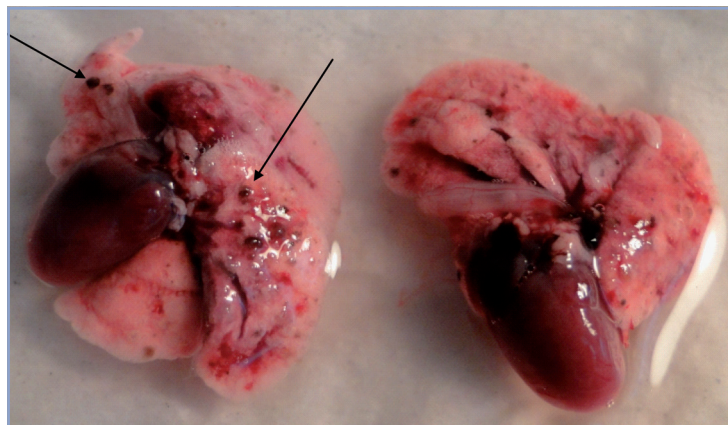


Figura 11. Cortes macroscópicos de pulmones de ratones NOD/SCID inyectados por vía endovenosa con línea Mel2 (control positivo de capacidad metastásica). Se observan múltiples lesiones pulmonares nodulares hiperpigmentadas a las 2 semanas de evolución.

celular debe tener un test de tumorigenicidad *in vivo* en ratones inmunosuprimidos que no tendrán rechazo a las células injertadas por el compromiso inmunitario de base. Los ratones NOD/SCID son cepas de difícil cuidado y mantención. La única cepa de ratones inmunosuprimidos NOD/SCID están disponibles en el Bioterio de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile. En Chile era imposible realizar esta metodología hasta hace un tiempo, sin embargo, debido al desarrollo de la investigación en Inmunología Antitumoral, se logró establecer las condiciones necesarias para mantener cepas de estos animales con seguridad.

La línea RCPTH demuestra en diversos análisis no tener característica de célula tumoral. Crece en monocapa, tiene inhibición por contacto, tiene baja tasa de mitosis, bajo porcentaje de incorporación de análogos de timidina (BrDU) y no presenta formación de colonias en condiciones de suspensión celular (crecimiento en agar blando).

En la prueba de tumorigenicidad *in vivo* se probó mediante la observación durante 10 sem que no produce tumores subcutáneos en ratones NOD/SCID y tampoco tiene potencial metastático hematológico.

Debemos establecer en el futuro condiciones de cultivo que estimulen la producción y secreción regulada de PTH humana.

Estas observaciones y pruebas científicas apoyan el establecimiento de una línea celular de paratiroides humana única, sin potencial tumorigénico, que podría utilizarse en el futuro en terapia celular.

Agradecimientos

A la SOCHED, por el aporte de recursos mediante fondo concursable SOCHED N° 2010-05 para la realización del proyecto "Tumorigenicidad *in vivo* de línea de paratiroides

Artículo Original

humana". A la Oficina de Apoyo a la Investigación Clínica (OAIC): por la asesoría metodológica y acreditación de protocolos. A Edgardo Caamaño, Laboratorio Endocrinología y biología de la reproducción, HCUCH por su apoyo constante en la medición de PTH.

Referencias bibliográficas

1. Gac P, Cabané P, Amat J y cols. 2007. Hipocalcemia post Tiroidectomía Total. Rev Med Chile 135: 26-30.
2. Kald BA, Mollerup CL. 2002. Risk factors for severe postoperative hypocalcemia after operations for primary hyperparathyroidism. Eur J Surg 168 (10): 552-556.
3. Olson J, De Benedetti M, Baumann D, Wells S. 1996. Parathyroid Autotransplantation during thyroidectomy. Ann Surg 223: 472-480.
4. Tolloczko T, Wozniwicz B, Sawicki A, Nawrot I, Migaj M, Zabitowska T, Górski A. 1994. Cultured parathyroid cell transplantation without immunosuppression in the treatment of surgical hypoparathyroidism. Transplantation Proceedings 26 (4): 1901-1902.
5. Tolloczko T, Wozniwicz B, Sawicki A, Górski A. 1997. Allotransplantation of Cultured Human Parathyroid Cells: Present Status and Perspectives. Transp Proc 29: 998-1000.
6. Cabané P, Gac P, Amat J, Pineda P, Rossi R, Caviedes R, Caviedes P. 2009. Allotransplant of microencapsulated parathyroid tissue in severe postsurgical hypoparathyroidism: a case report. Transplant Proc 41 (9): 3879-3883.
7. Brandt ML, Fitzpatrick LA, Coon H, Aurbach G. 1986. Bovine parathyroid cells: cultured maintained for more than 140 population doublings. PNAS 83: 1709-1713.
8. Picariello L, Benvenuti S, Recenti R, Formigli L, Falchetti A, Morelli A, et al. 2001. Microencapsulation of human parathyroid cells: An "in vitro" study. J Surg Res 96: 81-89.
9. Nawrot I, Wozniwicz B, Tolloczko T, Sawicki A, Gorski A, Chudzinski W, et al. 2007. Allotransplantation of cultured parathyroid progenitor cells without immunosuppression: clinical results. Transplantation 83 (6): 734-740.
10. Caviedes R, Liberona JL, Hidalgo J, Tascon S, Salas K, Jaimovich E. 1992. A human skeletal muscle cell line obtained from an adult donor. Bioch Biophys Acta 1134: 247-255.
11. Cabané P, Oviedo S, Romero C, Rossi R, Caviedes R, Caviedes P. 2003. Cultivo primario e immortalización de células de paratiroides para trasplante celular en hipoparatiroidismo postquirúrgico. Rev Chil Cirugía 55 (6): 617-621.
12. Cabané P, Rossi R, Oviedo S, Romero C, Caviedes R, Caviedes P. 2006. Primera Línea Celular Inmortal de Paratiroides Humana. Revista HCUCh 17 (1): 13-19.
13. Gerschenson LE, Andersson M, Molson J, Okigaki T. 1970. Tyrosine Transaminase Induction by Dexamethasone in a New Rat Liver Cell Line. Science 170: 859-861.
14. Cameron D, Hushen J, Nazian S. 2001. Formation of insulin-secreting, sertoli enriched tissue constructs by microgravity coculture of isolated pig islets and rat sertoli cells. In vitro Cell Develop Biol 37 (8): 490-498.
15. Soto ML, Del Río R, Álvarez S, Martin MS, Jara A. 2001. Co-trasplante alogénico de células hepáticas e islotes en ratas diabéticas. Mapfre Medicina 12 (3): 198-203.
16. Garkavenko O, Elliott RB, Escobar L, Muzina M. Diatranz Ltd. Growing cells for xenotransplantation in culture. 20th Annual Scientific Meeting, Canberra, Australia 2002. The transplantation society of Australia.
17. Korbitt GS, Elliot JF, Rajotte RV. 1997. Cotransplantation of allogeneic islets with allogeneic testicular cell aggregates allows long-term graft survival without systemic immunosuppression. Diabetes 46 (2): 317-322.
18. Suárez-Pinzon W, Korbitt GS, Power R, Hooton J, Rajotte R, Rabinovitch A. 2000. Testicular Sertoli cells protect islets (beta)-cells from autoimmune destruction in NOD Mice by transforming growth factor-(beta)1-dependent mechanism. Diabetes 49: 1810-1818.
19. Valdés R, Elliot R, Garibay N, Garvavenko D, Bracho E, Macías C, et al. Safety and preliminary efficacy of porcine islets and sertoli cells implanted into an autologous collagen generating device in type 1 diabetic humans. 5th International Congress of the Immunology of Diabetes Society 2001. Concurrent Session: Cell and Islet xenotransplantation. Chicago, IL, USA. 29 sept-03 oct 2001.
20. Caviedes P, Caviedes R, Freeman TB, Sanberg PR, Cameron DF. Proliferated Cell Lines and Uses Thereof. International Publication number WO 03/065999 A2. Filed feb. 8th, 2002, publication date: August 14th, 2003. World Intellectual Property Organization, International Bureau. USA: US 2003/0232752 A1 (7 feb 2003). European Patent EP1575524 (09/21/2005).
21. Morton DB, Griffiths PH. 1985. Guidelines on the recognition of pain, distress and discomfort in experimental animals and an hypothesis for assessment). The Veterinary record 116: 431-436.

¿Qué hay de nuevo en el síndrome de ovario poliquístico?

Amanda Ladrón de Guevara H.^{1,2}, Nataly Vantman L.¹, Bárbara Echiburú L.¹, Daniel Miranda S.² y Teresa Sir-Petermann^{1,2}

What's new in polycystic ovary syndrome

Polycystic ovary syndrome is recognized as a risk factor for the development of type 2 diabetes and metabolic syndrome. The prevalence of the condition is 6 to 10% in different populations. Its etiology is not well known and there are genetic and epigenetic phenomena involved. Due to its association with insulin resistance, it has been incorporated as another component of Reaven plurimetabolic syndrome. Therefore polycystic ovary syndrome evolved from an ovarian disease to a multisystem disorder and it must be considered a public health problem.

Key words: Polycystic ovary syndrome, polygenic disease, physiopathology.

¹Laboratorio de Endocrinología y Metabolismo, Facultad de Medicina Occidente, Universidad de Chile.

²Unidad de Endocrinología-Servicio de Medicina, Hospital San Juan de Dios.

Proyecto SOCHED 2009-05.

Correspondencia:
Amanda Ladrón de Guevara Hernández
Las Palmeras 299, interior Quinta Normal.
Teléfono: 6816693 / 6814676. Fax: 6816693
E-mail: a.ldeguevara@yahoo.com

Recibido: 25 de enero de 2013

Aceptado: 15 de abril de 2013

Introducción

El síndrome de ovario poliquístico (SOP), es un desorden hiperandrogénico asociado a oligo-ovulación crónica y morfología de ovarios poliquísticos. Es la causa más común de hiperandrogenismo con una incidencia que alcanza 6 a 10% según crietrios descritos en 1990 por el *National Institutes of Health* en Estados Unidos (NIH) tanto en mujeres adolescentes como adultas^{1,2}. Esta prevalencia aumenta a un 15% si se utilizan los criterios de Rotterdam descritos en el año 2003³. Su etiología es incierta y se manifiesta por síntomas y signos variados que afectan a cada mujer en forma particular. Entre ellos destacan las irregularidades menstruales, manifestaciones cutáneas del hiperandrogenismo, infertilidad, obesidad, RI y el aspecto poliquístico de los ovarios en la ultrasonografía.

Inicialmente el SOP fue definido como una patología reproductiva, basada en las características morfológicas de los ovarios tales como: aumento de tamaño, engrosamiento de la túnica albugínea y microquistes múltiples situados periféricamente en la zona subcortical ovárica⁴. Posteriormente se determinó que el síndrome clínico podía asociarse a ovarios de morfología aparentemente normal y que hasta el 25% de las mujeres sanas podían presentar imágenes ultrasonográficas sugerentes de ovarios poliquísticos sin el síndrome clínico⁵, por lo que en la actualidad se acepta que las alteraciones morfológicas de los ovarios no son necesarias para su diagnóstico.

Luego aparecen las primeras publicaciones en que se describe la presencia de RI periférica y su expresión a través de una hipersecreción de insulina en estas mujeres⁶. Se determinó que el estímulo de insulina promueve una mayor secreción de andrógenos por el ovario y las glándulas suprarrenales; aumenta la secreción de LH y además disminuye la síntesis hepática de la SHBG (globulina transportadora de hormonas sexuales) con lo cual aumenta la fracción libre y actividad biológica de los andrógenos⁷⁻⁹.

Desde entonces, se han publicado un sinnúmero de estudios clínicos y epidemiológicos que describen una fuerte asociación entre el SOP, la obesidad, hígado graso, dislipidemia, diabetes mellitus tipo 2, hipertensión arterial y riesgo cardiovascular¹⁰⁻¹².

En la actualidad se ha avanzado notablemente en la fisiopatología de esta enfermedad.

Se ha determinando que tanto el ovario como la glándula suprarrenal participan activamente en la formación e hipersecreción de andrógenos. Se ha identificado además, órganos potenciadores que, aunque no pueden sintetizar andrógenos de novo, pueden amplificar la actividad androgénica a través de la conversión periférica de hormonas débiles a más potentes, gracias a las enzimas esteroidogénicas que poseen. Esta capacidad se ha determinado tanto en el tejido graso como en el folículo pilosebáceo¹³. Por otro lado, se ha comprobado un aumento en la actividad del sistema nervioso simpático (SNS) en las pacientes con SOP, cuya acción es capaz de

Artículo de Revisión

estimular la secreción ovárica de andrógenos¹⁴. Estos últimos hallazgos se encuentran en plena investigación y nos ayudan a entender esta enfermedad como una entidad cuya fisiopatología es muy compleja y que dista mucho de estar confinada al ovario.

El SOP es una enfermedad endocrino metabólica de compromiso sistémico de alta prevalencia. Por lo tanto, es evidente, según todos estos argumentos, que este síndrome debe considerarse un problema de salud pública que afecta a la mujer más allá de su esfera reproductiva.

1. Definición

La definición del SOP ha sufrido varias modificaciones desde su primera descripción.

En 1935 Stein y Leventhal lo definieron como hiperandrogenismo de origen ovárico que clínicamente se presentaba en mujeres jóvenes con obesidad, hirsutismo y amenorrea.

Esta definición, que es la más antigua, rescata lo modular de esta patología: la producción ovárica de andrógenos⁴.

Con el fin de unificar criterios y dado la heterogeneidad del síndrome, en 1990, en la conferencia de consenso del NIH en los Estados Unidos, se lo definió, como la “presencia de hiperandrogenismo asociado a anovulación crónica sin otra causa específica de enfermedad adrenal o hipofisaria que curse con irregularidades menstruales o exceso de andrógenos”²².

Posteriormente, la Sociedad Europea de Reproducción y Embriología (ESHRE) y la Sociedad Americana de Medicina Reproductiva (ASRM) en una conferencia de consenso realizada en Rotterdam en el año 2003 propuso una nueva definición, en donde la incorporación de la ecografía ginecológica juega un rol relevante en el diagnóstico³.

En este consenso se determinó que con 2 de 3 criterios presentes, puede establecerse el diagnóstico de SOP. De este modo al agrupar los criterios, pueden desprenderse 4 fenotipos diferentes de esta enfermedad como se observa en la Figura 1.

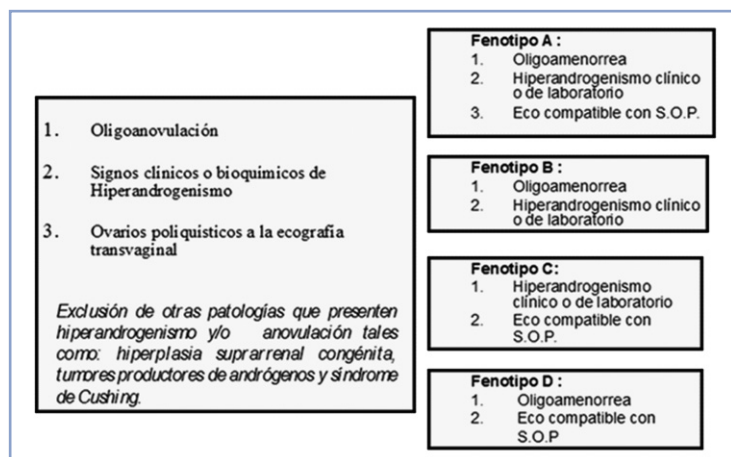


Figura 1. Criterios del consenso de Rotterdam 2003.

De estos, los fenotipos A y B cumplen con los criterios NIH y son los que podríamos considerar un “SOP clásico”. Mientras que el fenotipo C pudiera considerarse un estado de transición o intermedio entre una mujer normal y una SOP clásico¹⁵ y el fenotipo D por no tener hiperandrogenismo clínico ni hiperandrogenemia (aumento de andrógenos circulantes) para algunos expertos no debería considerarse dentro del espectro de esta patología asumiendo que por definición el SOP es un trastorno eminentemente hiperandrogénico¹⁶. Estos dos últimos fenotipos, son entidades que no cumplen con los criterios NIH y que han suscitado nuevas controversias^{16,17}.

Para mayor claridad en el diagnóstico, en el último workshop de NIH realizado en diciembre de 2012 se recomienda mantener los criterios diagnósticos de Rotterdam y especificar el fenotipo en cada paciente.

Definición de SOP en la adolescencia

No existe claridad para establecer el diagnóstico de esta patología en la adolescencia ya que en esta etapa de la vida, en mujeres sanas, es frecuente el acné, la seborrea así como alteraciones del ciclo menstrual. Se ha descrito en adolescentes sanas que 85% de los ciclos menstruales puede ser anovulatorio el primer año post menarquia, llegando a ser hasta 60% el tercer año posterior a la primera regla¹. Con respecto a la ecografía, la morfología SOP puede verse en un 40% de ellas^{18,19}.

Por lo anterior se estableció que para el diagnóstico de SOP es necesario que la mujer adolescente presente los siguientes criterios¹:

1. Oligo-amenorrea al menos 2 años post menarquia o amenorrea primaria en mayores de 16 años.
2. Ecografía con morfología de ovario poliquístico (MOP) según criterios de Rotterdam incluyendo tamaño mayor de 10 cc en uno o dos ovarios los cuales no deben presentar un folículo dominante.
3. Debe demostrarse un hiperandrogenismo de laboratorio y no solamente clínico.

Se entiende por hiperandrogenismo de laboratorio a un aumento de andrógenos plasmáticos (testosterona, androstenodiona, dehidroepiandrosterona y/o 17-hidroxiprogesterona) sobre los rangos normales para una mujer. La determinación de andrógenos circulantes debe realizarse en la fase folicular, es decir, entre el tercer y octavo día desde el inicio de la menstruación.

Es importante recordar que las mujeres con RI sin SOP, pueden presentar niveles de proteína transportadora de hormonas sexuales (SHBG) bajas, por acción de la insulina sobre el tejido hepático. Este fenómeno aumenta la expresión de andrógenos libres sin existir necesariamente un aumento en la producción de estas hormonas esteroidales.

Debido a este mecanismo fisiopatológico podemos ver en la clínica mujeres con hiperandrogenismo clínico, índice de andrógenos libres aumentado pero sin un aumento en la producción de andrógenos.

Artículo de Revisión

En nuestra experiencia, al observar el crecimiento y desarrollo de las hijas de mujeres con SOP, vemos que este síndrome se presenta con frecuencia después del 3er año post menarquía, alcanzando una prevalencia de 33% de acuerdo a los criterios del Consenso de SOP 2012¹.

2. SOP enfermedad endocrino-metabólica

El SOP es una disfunción endocrino- metabólica que se presenta desde etapas tempranas de la vida y condiciona un mayor riesgo de síndrome metabólico (SM). Esta patología, en conjunto con la disfunción beta pancreática, que suele presentarse precozmente en estas pacientes, condiciona la aparición de intolerancia a la glucosa en un 31,1% y hasta un 7,5% de diabetes mellitus tipo 2. Esto representa un riesgo relativo para diabetes de 3 a 7 veces mayor comparado con mujeres de la misma edad y a 2 veces si se compara con mujeres de igual edad e índice de masa corporal²⁰.

Sumado a estos datos se ha demostrado que las pacientes SOP presentan un riesgo cardiovascular elevado comparado con mujeres de la misma edad e independiente del índice de masa corporal, posiblemente debido al espectro de alteraciones metabólicas descritas en esta enfermedad: alta incidencia de hipertensión arterial, hipercolesterolemia, con altos niveles de LDL (*low density lipoprotein*), triglicéridos y bajo HDL (*high density lipoprotein*), acompañado de hígado graso.

Los marcadores de riesgo cardiovascular como proteína C reactiva ultrasensible, homocisteína y mediciones de arteriosclerosis subclínica están aumentados en estas pacientes²⁰.

En las últimas décadas se ha trabajado intensamente en aclarar cuál es el factor común en la etiopatogenia de esta enfermedad que explique las diversas alteraciones endocrino metabólicas. Falta mucho por investigar con respecto a este punto, sin embargo, la insulinoresistencia y la hiperinsulinemia compensatoria es reconocida como el principal factor responsable de la alteración en la producción de andrógenos, la función reproductiva y metabólica de estas pacientes²¹.

La obesidad por otro lado, sería un elemento amplificador, aumentando la secreción de andrógenos, el deterioro metabólico y reproductivo²².

En el último workshop de NIH (diciembre, 2012) señalan la necesidad de realizar estudios multicéntricos longitudinales que respondan algunas interrogantes actuales como la asociación del síndrome metabólico a un fenotipo específico o el impacto del tratamiento de las anormalidades metabólicas para reducir las complicaciones cardiovasculares y diabetes tipo 2.

3. Fisiopatología del ovario

Producción ovárica de andrógenos

La secreción excesiva de andrógenos, es un pilar fundamental en este síndrome y se caracteriza por una alteración de la biosíntesis en la esteroidogénesis de la célula de la teca.

Clásicamente ubicamos a las células de la teca distribuidas por fuera del folículo y sabemos que son capaces de producir andrógenos de novo a partir del colesterol. Esta acción está aumentada gracias al estímulo de la LH e insulina^{23,24}.

Las células de la teca no sólo están ubicadas alrededor del folículo sino también en el estroma ovárico.

En los últimos años ha tomado mayor relevancia la participación del estroma ovárico como fuente productora de andrógenos. En clínica, su expresión máxima se denomina hipertecosis cuadro que genera un hiperandrogenismo muy marcado e incluso, virilización.

La hipertecosis se caracteriza histológicamente por una hiperplasia estromal de las células de la teca²⁵.

Disfunción de la foliculogénesis

Se ha podido establecer, mediante estudios ultrasonográficos y biopsias ováricas, que las pacientes con SOP presentan un pool de folículos en crecimiento 2 a 3 veces superior que las mujeres sanas. La histología del síndrome de ovario poliquístico se caracteriza por un aumento de folículos preantrales y antrales pequeños y un mayor reclutamiento folicular²⁶. Esta situación se acompaña además de una detención del proceso de selección folicular, lo que explica la ausencia de ovulación²⁷. Por lo tanto, en el síndrome de ovario poliquístico habría mayor reclutamiento y una menor selección, lo que mantiene un aumento del pool de folículos en crecimiento productores de andrógenos.

En los últimos años se ha propuesto que la Hormona Antimülleriana (AMH) podría constituir un marcador sérico que refleje el número de folículos en crecimiento, independiente de gonadotrofinas y por lo tanto de la reserva ovárica en cualquier momento de la vida de la mujer²⁸. Además, recientemente hemos podido establecer que las hijas de mujeres con síndrome de ovario poliquístico tienen niveles significativamente mayores de AMH desde la infancia temprana (2 a 3 meses de vida) hasta la peripubertad, lo que sugiere que estas niñas nacen con una masa de folículos aumentada, lo que podría constituir un eslabón para el desarrollo ulterior de SOP^{29,30}.

4. Fisiopatología suprarrenal

En mujeres normales la secreción adrenal de andrógenos comienza a disminuir alrededor de los 30 años de edad, a diferencia del ovario que lo hace 3 a 4 años post menopausia³¹.

En mujeres con SOP, se ha observado que la secreción de andrógenos suprarrenales se mantiene incluso después de la menopausia y que contribuye significativamente en el hiperandrogenismo con una capacidad de secretar andrógenos similar a la del ovario^{32,33}.

Se postula que este hiperandrogenismo se debe tanto a un estímulo directo de la insulina sobre la suprarrenal; como a un estímulo indirecto de la insulina al incrementar la producción de factores de crecimiento insulinosímiles a nivel hepático (principalmente IGF-1) que a su vez estimulan la

Artículo de Revisión

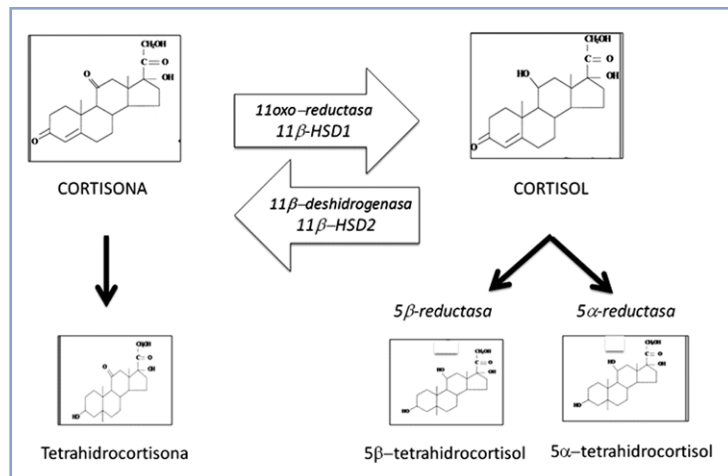


Figura 2. Metabolismo del cortisol en el tejido adiposo. 11β-HSD1: 11 beta hidroxisteroide deshidrogenasa tipo 1. 11β-HSD2: 11 beta hidroxisteroide deshidrogenasa tipo 2.

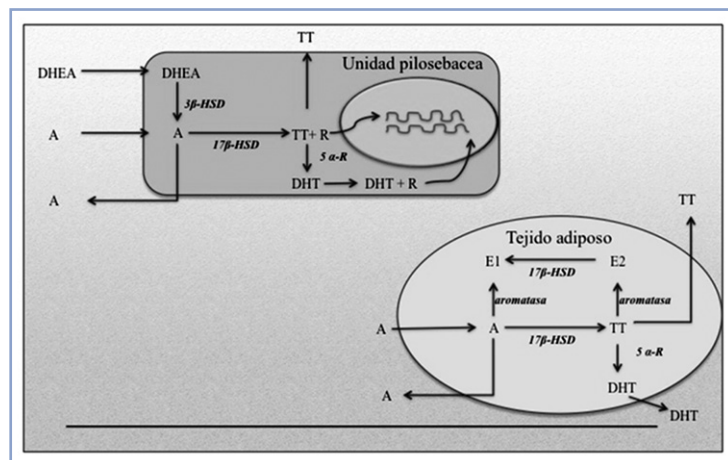


Figura 3. Unidad endocrina: pilosebacea y tejido adiposo. A: Androstenediona; DHEA: dehidroepiandrosterona; TT: testosterona; DHT: dehidrotestosterona; R: receptor esteroidal; 5 α-R: 5 alfa reductasa; 17 β-HSD: 17 hidroxisteroide deshidrogenasa; E1: estrón; E2: estradiol.

glándula suprarrenal.

En mujeres obesas con SOP, se ha descrito un tercer mecanismo en la génesis del hiperandrogenismo. El tejido adiposo aumentaría la degradación de cortisol a través de las enzimas 11 beta hidroxisteroide deshidrogenasa tipo 2, 5 alfa reductasa y 5 beta reductasa presentes en el adipocito (Figura 2). Lo cual provocaría un déficit relativo de cortisol plasmático, estimulando de esta forma la secreción hipofisiaria de ACTH la que a su vez, estimularía la esteroidogénesis suprarrenal^{34,35}.

5. Fisiopatología de los mecanismos potenciadores

a. Unidad endocrina pilosebacea y tejido adiposo

Las hormonas esteroidales se caracterizan por ser altamente liposolubles, por lo que penetran fácilmente al tejido adiposo y a la unidad pilosebacea. Estos tejidos son denominados órganos potenciadores de andrógenos.

Si bien el adipocito no tiene la capacidad de producir andrógenos de novo, posee actividad esteroidogénica para transformar hormonas débiles como la dehidroepiandrosterona (DHEA) y la androstenediona a andrógenos más potentes como testosterona y dehidroepiandrosterona³⁶ como se muestra en la Figura 3.

Los principales andrógenos como la testosterona y la androstenediona circulan en un alto porcentaje unidos a la proteína transportadora de hormonas sexuales (SHBG). Esto evita que dichas hormonas se encuentren biodisponibles para ejercer su acción en los órganos potenciadores actuando como un verdadero reservorio plasmático que se mantiene inactivo mientras se encuentre ligado a esta proteína. Las mujeres con SOP y RI presentan bajos niveles plasmáticos de SHBG por efecto de la insulina sobre el hígado^{15,21}, por lo que poseen mayores concentraciones de andrógenos libres circulantes susceptibles de actuar a nivel del tejido adiposo y unidad pilosebacea.

Como mencionamos anteriormente, el tejido adiposo participa en el metabolismo periférico del cortisol por lo tanto, en mujeres con un alto porcentaje de grasa corporal esto puede llegar a activar el eje corticotropo^{34,35}.

b. Sistema Nervioso Simpático e Hiperandrogenismo ovárico

Los ovarios de mujeres con SOP, presentan una gran densidad de fibras nerviosas catecolaminérgicas, con aumento de actividad del SNS local³⁷.

Se ha planteado que el incremento de actividad simpática puede contribuir al aumento de secreción de andrógenos ováricos³⁸. Se ha demostrado en modelos de ratas transgénicas y en mujeres con SOP, un aumento del factor de crecimiento nervioso (NGF) en tejido ovárico, marcador de la actividad del SNS la cual se relaciona con el grado de producción de testosterona y severidad del SOP^{39,40}.

Debido a estos hallazgos, existen grupos de investigación que incentivan el ejercicio, especialmente el yoga para atenuar la actividad simpática.

Otros grupos sugieren la electroacupuntura como método disruptor de la innervación ovárica^{41,42}.

6. Morfología SOP en ecografía

La morfología tipo SOP de ovario poliquístico (MOP), según criterios de Rotterdam puede observarse entre un 17 a 33% de mujeres adultas sanas²¹ y hasta un 40% en adolescentes sanas¹⁸. Por lo anterior, este hallazgo aislado, no constituye diagnóstico de síndrome de ovario poliquístico.

Artículo de Revisión

Por otro lado, la presencia de MOP se ha descrito como marcador de reserva ovárica y de envejecimiento ovárico más tardío⁴³.

En mujeres adultas existe debate sobre significado clínico de estos hallazgos ecográficos. Es así como, en pacientes con hipogonadismo hipogonadotrópico y pacientes epilépticas en tratamiento con ácido valproico se ha observado la presencia de MOP en la ecografía y una hipersecreción de LH al estímulo con análogos de GnRH^{44,45}. Lo que sugiere que este aspecto ecográfico no es patognomónico del SOP. Lo mismo es válido para la etapa postmenáurica inicial, en que niñas sanas también presentan este tipo de imagen ecográfica¹⁹.

En suma, los hallazgos característicos de MOP en la ecografía, no constituyen un diagnóstico por sí solos, pero es un rasgo fenotípico que debe controlarse²¹.

7. Hipertecosis

Nos referiremos a esta patología que a pesar de ser poco frecuente, en los últimos años hemos observado un aumento de casos en el policlínico de nuestro laboratorio.

La hipertecosis se caracteriza por una hiperplasia estromal de células de la teca, que pueden distribuirse en forma aislada, como pequeños nidos o incluso, formar nódulos. La hiperinsulinemia es la base de esta patología. El estímulo insulínico sostenido sobre estas células, produciría la hiperplasia.

Clínicamente se caracteriza por hiperandrogenismo severo que puede llegar a la virilización, acompañado por un cuadro metabólico muy acentuado^{25,46}.

Suele acompañarse de hipertensión arterial, alteraciones del metabolismo de hidratos de carbono, dislipidemia y obesidad. En la literatura hay pocos casos descritos y la mayoría ocurren en la post menopausia^{46,47}. Hemos observado un número creciente de esta entidad desde la etapa reproductiva temprana hasta la post menopausia posiblemente debido a la alta prevalencia de síndrome metabólico e insulinoresistencia que existe en nuestro país⁴⁸.

De acuerdo a los casos que hemos observado, el perfil hormonal de estas pacientes se caracteriza por elevados niveles de testosterona (mayor a 1 ng/ml), concomitante con el aumento de otros andrógenos de origen ovárico como androstenediona y 17 OH progesterona lo cual hace indispensable descartar tumores virilizantes o hiperplasia suprarrenal congénita como diagnósticos diferenciales.

Las características ecográficas son variables. Lo más frecuente es encontrar un ovario normal o con un volumen aumentado a expensas del estroma ovárico o una MOP clásica, sugiriendo que la interpretación ecográfica de la hipertecosis es compleja^{49,50}.

Finalmente el diagnóstico de esta patología es histológico por lo que sólo puede realizarse en forma certera a través de una biopsia ovárica, siendo su tratamiento quirúrgico.

A través de esta pequeña revisión deseamos demostrar que el nombre "síndrome de ovario poliquístico" no refleja

en esencia lo que esta entidad representa debido a que es una patología donde se entrecruzan alteraciones de numerosos órganos y sistemas, comprometiendo varios aspectos de la salud en la mujer y no solamente de su esfera reproductiva.

Agradecimientos

Deseamos agradecer a la Sociedad Chilena de Endocrinología y Metabolismo (proyecto SOCHED 2009-05) y Proyecto Fondecyt 1110864 y a los miembros académicos y no académicos del Laboratorio de Endocrinología y Metabolismo de la Facultad de Medicina Occidente de la Universidad de Chile por su colaboración.

Referencias bibliográficas

1. Fauser B, Tarlatzis B, Rebar R, Legro R. 2012. Consensus on women's health aspects of polycystic ovary syndrome (PCOS): the Amsterdam ESHRE/ASRM-Sponsored 3rd PCOS Consensus Workshop Group. *Fertil Steril* 97: 28-38.
2. Carmina E. 2004. Diagnosis of polycystic ovary syndrome: from NIH criteria to ESHRE-ASRM guidelines. *Minerva Ginecol* 56: 1-6.
3. Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group 2004. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 81: 19-25.
4. Stein IF, Leventhal ML. 1935. Amenorrhea associated with bilateral polycystic ovaries. *Am J Obstet Gynecol* 29: 181-191.
5. Polson DW, Adams J, Wadsworth J, et al. 1988. Polycystic ovaries: a common finding in normal woman. *Lancet* 1: 870-878.
6. Nestler JE, Powers LP, Matt DW, et al. 1991. A direct effect of hyperinsulinemia on serum sex hormone-binding globulin levels in obese women with the polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol Metab* 72: 83-89.
7. Dunaif A, Segal KR, Futterweit W, et al. 1989. Profound peripheral insulin resistance, independent of obesity, in polycystic ovary syndrome. *Diabetes* 38: 1165-1174.
8. Adashi EY, Hsueh AJ, Yen SS. 1981. Insulin enhancement of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone release by cultured pituitary cells. *Endocrinology* 108: 1441-1449.
9. Homburg R. 2009. Androgen circle of polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 24: 1548-1555.
10. Legro RS, Kusanman AR, Dodson WC, et al. 1999. Prevalence and predictors of risk for Type II diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in polycystic ovary syndrome: a prospective, controlled study in 254 affected women. *J Clin Endocrinol Metab* 84: 165-169.
11. Cerda C, Pérez-Ayuso RM, Riquelme A, et al. 2007. Nonalcoholic fatty liver disease in women with polycystic ovary syndrome. *J Hepatol* 47: 412-417.
12. Moran LJ, Misso ML, Wild RA, Norman RJ. 2010. Impaired glucose tolerance, type 2 diabetes and metabolic syndrome in

Artículo de Revisión

- polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update* 16: 347-363.
13. Pasquali R, Casimirri F. 1993. The impact of obesity on hyperandrogenism and polycystic ovary syndrome in premenopausal women. *Clinical Endocrinology (Oxford)*, 39: 1-16.
14. Heider U, Pedal I, Spanel-Borowski K. 2001. Increase in nerve fibers and loss of mast cells in polycystic and postmenopausal ovaries. *Fertility Sterility* 75: 1141-1147.
15. Diamanti-Kandarakis E, Dunaif A. 2012. Insulin Resistance and the Polycystic Ovary Syndrome Revisited: An Update on Mechanisms and Implications. *Endocrine Reviews*. First published ahead of print October 12, 2012 as doi:10.1210/er.2011-1034.
16. Azziz R. 2006. Controversy in clinical endocrinology: diagnosis of polycystic ovarian syndrome: the Rotterdam criteria are premature. *J Clin Endocrinol Metab* 91: 781-785.
17. Franks S. 2006. Controversy in clinical endocrinology: diagnosis of polycystic ovarian syndrome: in defense of the Rotterdam criteria. *J Clin Endocrinol Metab* 91: 786-789.
18. Codner E, Villarroel C, Eyzaguirre FC, et al. 2011. Polycystic ovarian morphology in postmenarchal adolescents. *Fertil Steril* 95: 702-706.
19. Villarroel C, Merino PM, López P, et al. 2011. Polycystic ovarian morphology in adolescents with regular menstrual cycles is associated with elevated anti-Müllerian hormone. *Hum Reprod* 26: 2861-2868.
20. Harpal R, Bee T, Martin W, Weickert L, John N, Naveed S, et al. 2012. Cardiometabolic Aspects of the Polycystic Ovary Syndrome. *Endocrine Reviews* 33: 812-841.
21. Pasquali R, Stener-Victorin E, Yildiz B, Duleba A, Hoeger K, Mason H. 2011. PCOS Forum: research in polycystic ovary syndrome today and tomorrow. *Clinical Endocrinology* 74: 424-433.
22. Escobar-Morreale HF, Botella-Carretero JI, Álvarez-Blasco F, et al. 2005. The polycystic ovary syndrome associated with morbid obesity may resolve after weight loss induced by bariatric surgery. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 90: 6364-6369.
23. Gilling-Smith C, Willis DS, Beard RW, Franks S. 1994. Hypersecretion of androstenedione by isolated thecal cells from polycystic ovaries. *J Clin Endocrinol Metab* 79: 1158-1165.
24. Sir-Petermann T, Cartes A, Maliqueo M, et al. 2004. Patterns of hormonal response to the GnRH agonist leuprolide in brothers of women with polycystic ovary syndrome: a pilot study. *Hum Reprod* 19: 2742-2747.
25. Hughesdon PE 1982. Morphology and morphogenesis of the Stein-Leventhal ovary and of so-called "hyperthecosis". *Obstet Gynecol Surv* 37: 59-77.
26. Webber LJ, Stubbs S, Stark J, Trew GH, Margara R, Hardy K, et al. 2003. Formation and early development of follicles in the polycystic ovary. *Lancet* 362: 1017-1021.
27. Jonard S, Dewailly D. 2004. The follicular excess in polycystic ovaries, due to intraovarian hyperandrogenism, may be the main culprit for the follicular arrest. *Human Reprod* 10: 107-117.
28. Sowers MR, Eyvazzadeh AD, McConnell D, Yosef M, Jannausch ML, Zhang D, et al. 2008. Anti-Müllerian Hormone and Inhibin B in the Definition of Ovarian Aging and the Menopause Transition. *J Clin Endocrinol Metab* 93: 3478-3483.
29. Sir-Petermann T, Codner E, Maliqueo M, et al. 2006. Increased anti-Müllerian hormone serum concentrations in prepubertal daughters of women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 91: 3105-3109.
30. Crisosto N, Codner E, Maliqueo M, et al. 2007. Anti-Müllerian hormone levels in peripubertal daughters of women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 92: 2739-2743.
31. Lasley BL, Santoro N, Randolph JF, et al. 2002. The relationship of circulating dehydroepiandrosterone, testosterone, and estradiol to stages of the menopausal transition and ethnicity. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 87: 3760-3767.
32. Piltonen T, Koivunen R, Ruokonen A, et al. 2003. Ovarian age-related responsiveness to human chorionic gonadotropin. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 88: 3327-3332.
33. Puurunen J, Piltonen T, Jaakkola P, et al. 2009. Adrenal androgen production capacity remains high up to menopause in women with polycystic ovary syndrome. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 94: 1973-1978.
34. Stewart PM, Shackleton CH, Beatal, GH, et al. 1990. 5 alpha-reductase activity in polycystic ovary syndrome. *Lancet* 335: 431-433.
35. Gambineri A, Forlani G, Munarini A, et al. 2009. Increased clearance of cortisol by 5beta-reductase in a subgroup of women with adrenal hyperandrogenism in polycystic ovary syndrome. *Journal of Endocrinological Investigation* 32: 210-218.
36. Barber M, McCarthy I, Wass A, Franks S. 2006. Obesity and polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 65: 137-45.
37. Lara H, Disen A, Leyton V, Paredes A, Fuenzalida H, Fiedler L, et al. 2000. An increased intraovarian synthesis of nerve growth factor and its low affinity receptor is a principal component of steroid-induced polycystic ovary in the rat. *Endocrinology* 141: 1059-1072.
38. Heider U, Pedal I, Spanel-Borowski K. 2001. Increase in nerve fibers and loss of mast cells in polycystic and postmenopausal ovaries. *Fertility Sterility* 75: 1141-1147.
39. Disen GA, García-Ruda C, Paredes A, et al. 2009. Excessive ovarian production of nerve growth factor facilitates development of cystic ovarian morphology in mice and is a feature of polycystic ovarian syndrome in humans. *Endocrinology* 150: 2906-2914.
40. Sverrisdottir YB, Mogren T, Kataoka J, et al. 2008. Is polycystic ovary syndrome associated with high sympathetic nerve activity and size at birth? *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism* 294: E576-E581.
41. Jedel E, Labrie F, Oden A, et al. 2011. Impact of electroacupuncture and physical exercise on hyperandrogenism and oligo/amenorrhoea in women with polycystic ovary syndrome: a randomized controlled trial. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 300: E37-45.
42. Stener-Victorin E, Jedel E, Janson PO, et al. 2009. Low-frequency electroacupuncture and physical exercise decrease high muscle sympathetic nerve activity in polycystic ovary syndrome. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 297: R387-395.
43. Mulders AG, Laven JS, Eijkemans MJ, et al. 2004. Changes in anti-Müllerian hormone serum concentrations over time suggest

Artículo de Revisión

- delayed ovarian ageing in normogonadotrophic anovulatory infertility. *Human Reproduction* 19: 2036-2042.
44. Schachter M, Balen AH, Patel A, et al. 1996. Hypogonadotropic patients with ultrasonographically detected polycystic ovaries: endocrine response to pulsatile gonadotropin-releasing hormone. *Gynecological Endocrinology* 10: 327-335.
 45. Isojarvi JI, Laatikainen TJ, Pakarinen AJ, et al. 1993. Polycystic ovaries and hyperandrogenism in women taking valproate for epilepsy. *New England Journal of Medicine* 329: 1383-1388.
 46. Barth JH, Jenkins M, Belchetz PE. 1997. Ovarian hyperthecosis, diabetes and hirsuties in post-menopausal women. *Clinical Endocrinology (Oxford)* 46: 123-128.
 47. Goldman J, Kapadia L. 1991. Virilization in a postmenopausal woman due to ovarian stromal hyperthecosis. *Postgrad Med J* 67: 304-306.
 48. Ministerio de Salud Pública de Chile. Encuesta Nacional de Salud, 2009-2010.
 49. Brown DL, Henrichsen TL, Clayton AC, et al. 2009. Ovarian Stromal Hyperthecosis: Sonographic Features and Histologic Associations. *J Ultrasound Med* 28: 587-593.
 50. Rousset P, Gompel A, Christin-Maitre S, et al. 2008. Ovarian hyperthecosis on grayscale and color Doppler ultrasound. *Ultrasound Obstet Gynecol* 32: 694-699.

Carta al Editor

Transexualidad o trastorno de identidad de género

Homenaje al equipo que realizó en marzo de 1973 la primera reasignación de sexo de varón a mujer en Chile y Latinoamérica

Rol de la endocrinología en sexualidad y sus alteraciones

A inicios del siglo XX la Endocrinología europea, especialmente en Alemania y Austria, clínica y experimentalmente se preocupó de la relación entre función gonadal y trastornos del desarrollo sexual (DSD) llamados entonces estados intersexuales.

La sexología de la época estaba dominada por la visión puramente psicológica y sicopatológica de la sexualidad normal y patológica iniciada por Sigmund Freud. La escuela berlinesa de sexología que contaba con destacados endocrinólogos, había iniciado estudios relacionando hormonas y sexualidad, desapareciendo por el exilio de sus miembros y el incendio de su biblioteca por el régimen nazi.

El endocrinólogo berlinés Harry Benjamin (1885-1986), refugiado en USA, estudia los primeros pacientes que consultan por una identificación persistente con el sexo contrario a su sexo legal y biológico, considerando que su sexo mental y social (hoy llamado identidad y rol de género) no coinciden con su corporalidad, diagnosticándolos como transexuales. El no ser reconocidos legal y socialmente con su sexo mental (identidad de género) les producía gran sufrimiento y muchas veces intensa disforia.

Benjamin en los 50' inicia la terapia endocrina tratando con las hormonas correspondientes a la identidad sexual del paciente, estrógenos al transexual de varón a mujer y andrógenos al transexual de mujer a varón, obteniendo mejoría del sufrimiento y alteraciones psicológicas de estas personas.

Posteriormente formando equipo con siquiatra y cirujano, inicia la terapia de reasignación sexual, difundiendo en 1966 su experiencia en el libro "El Fenómeno Transexual".

En reconocimiento a su labor pionera tomó su nombre la Asociación Internacional Harry Benjamin de Disforia de Género hoy llamada Asociación Profesional Mundial para Salud Transgénero (WPATH) que ha elaborado guías diagnósticas y terapéuticas desde 1979 a 2012^{1,2}. La Endocrine Society³ publica en el JCEM 2009 la guía clínica de tratamiento de las personas transexuales considerando las normas de la WPATH.

En Chile el desarrollo de la Endocrinología fue influenciado por estas ideas europeas principalmente por el aporte del Profesor Alejandro Lipschutz, investigador destacado exiliado en Chile en la primera mitad del siglo XX. El libro "SOCHED a 50 años de su fundación" editado por la Sociedad Chilena de Endocrinología y Diabetes el 2008 señala que al inicio oficial de las actividades de la Sociedad Chilena de Endocrinología y Metabolismo (hoy SOCHED), Lipschutz dictó la conferencia "50 años de Endocrinología Sexual", editado posteriormente (ed. Andrés Bello en 1959).

Destacados endocrinólogos se interesaron por los aspectos clínicos de la endocrinología sexual, entre ellos, Julio Parada y Rafael Téllez, ex presidentes de nuestra Sociedad, y la Dra. Paula Peláez quien además desarrolló una importante labor en el estudio de adolescencia y educación sexual.

Hay que destacar en esos años al ginecólogo Osvaldo Quijada, uno de los precursores de la medicina sexual chilena, tanto en la práctica clínica como en la elaboración de numerosos textos sobre sexualidad siendo el más conocido "Vida y Sexo" editorial Universitaria 1971.

Gracias a la labor de los anteriormente citados y de otros, se fundó en 1967 la Sociedad Chilena de Sexología Antropológica.

Dentro de las actividades iniciales de esta Sociedad destaca la realización del Primer Congreso Chileno de Sexología en el que tuve el honor de presentar una experiencia de educación sexual del Consultorio Lo Valledor Norte dependiente del Hospital San Borja, motivado por el ejemplo de la Dra. Peláez. Otro evento de gran importancia fue la organización de la mesa redonda "Cambio de Sexo" (diciembre 1967) en que participaron endocrinólogos como Julián Parada, Rafael Téllez, Radek Barrera, el ginecólogo Osvaldo Quijada y el sacerdote católico Javier Peró.

Deseo hacer notar la gran acogida que tuvieron estas actividades en los medios de comunicación social, prensa y Televisión Nacional de Chile, además del diálogo respetuoso y constructivo con miembros de la Iglesia Católica.

Como señalamos, Harry Benjamin, diagnosticó en 1948 los primeros casos en USA pero el primer caso de terapia completa de reasignación de sexo incluyendo la cirugía, se realizó en 1957 en un varón que pasó a ser la mundialmente conocida Cristine Georgensen.

Producto de estas experiencias se formó en el antiguo Hospital San Borja de la Alameda Bernardo O'Higgins un equipo dirigido por el Dr. Osvaldo Quijada quien fue responsable de la reconstrucción femenina de los genitales; los endocrinólogos Drs. Parada y Téllez en la terapia endocrina previa y posterior a la cirugía, el Dr. Manuel Godoy en el aspecto de salud mental y en la reconstrucción genitourológica el urólogo Dr. Antonio Salas V. Fui testigo de este evento ya que iniciaba mi interés por la endocrinología y como las vetustas y bellas puertas del Hospital San Borja vieron entrar a un varón y salir a Marcia Alejandra.

Desde entonces proviene mi interés y práctica en el tema, de menor cuantía en el período de latencia iniciado desde 1973 e intensificada en estos últimos años debido a la apertura que lentamente se ha producido en la sociedad chilena y paso a paso en el ambiente médico.

Urge estar preparados frente al desafío de un tema que se discute más abiertamente, en que los afectados piden se respeten sus derechos humanos y sexuales y en que nuestra sociedad está siendo sometida a cambios legales (Ley Antidiscriminación) e incluso pronunciamientos del Ministerio de Salud mediante circulares de personas Trans (2011 y 2012) y las normas para adecuación corporal (Vía clínica para la adecuación corporal en personas con incongruencia

entre sexo físico e identidad de género elaborada en el período 2007-2010)⁴ difundida en septiembre de 2011.

Nuestra educación médica es deficiente en el aspecto sexológico, estos temas históricamente han estado ausentes de las actividades de la SOCHED y un ejemplo es que 45 años después que endocrinólogos participaran en la primera mesa redonda sobre la reasignación de sexo, este tema recién lo discutíramos en el último Congreso de la SOCHED por un equipo que integró salud mental, endocrinología y cirugía.

Mi ferviente deseo es que los endocrinólogos de adultos, adolescentes y niños nos preparemos en el tema y participemos con entusiasmo y convicción en la atención integral que se debe ofrecer a una minoría discriminada y sufriente, no renunciando a nuestro rol en el diagnóstico y en la terapia hormonal.

Referencias bibliográficas

1. The Harry Benjamin International Gender Dysphoria Association (2001). The standards of care for gender identity disorders (6° version). Mineapolis: HBGDA.
2. The World Professional Association for Transgender Health (2011). Standards of care for the health of transsexual, transgender and gender nonconforming people (7° version).
3. Hembree WC, Cohen-Kettenis P, Delamarre-van de Waal HA, Gooren LJ, Meyer WJ, Spack NP, et al. Endocrine Treatment of Transsexual Persons: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. J Clin Endocrinol Metab 2009; 94: 3132-3154.
4. Vía clínica para la adecuación corporal en personas con incongruencia entre sexo físico e identidad de género. Documento de atención médica. Procedimientos de reasignación corporal. MINSAL, 2011.

Dr. Enzo Devoto C.

Ética Humanismo y Sociedad

Acogida hogareña

Dr. José Carlos Bermejo

Religioso Camilo. Director del Centro de Humanización de la Salud. Tres Cantos, Madrid España.

Reception and Linens

Viajo mucho. Sí. Esto me permite, entre otras cosas, apreciar lo que significa ser hospedado en los más variados lugares y de las más diferentes formas. Es obvio: no hay como estar fuera para apreciar lo que significa estar en casa, con la rutina personal del propio hogar, los referentes habituales, las personas que inspiran confianza, la silenciosa convivencia con la dosis de salud de la que cada uno es capaz de hacer experiencia.

Con ocasión de la enfermedad, si algo inspira confianza es que uno sea atendido con aires familiares, hogareños, en lugares acogedores, humanizados. Quizás los criterios de la arquitectura hospitalaria y la humano-relacional se han ido centrando más en el modelo biomédico que en la acogida de la persona enferma y su familia.

¿Nuevos aires?

En los últimos años, las diferentes voces que reclaman humanización, los modelos que se definen a sí mismos como centrados en la persona (en salud y en intervención social), las corrientes de psicología humanista o más integradoras, reclaman variables de atención en los que la acogida, la hospitalidad, ocupa un lugar relevante.

Los hospitales, como también los centros de servicios sociales, así como los profesionales que trabajamos en ellos, corremos el riesgo de dejarnos habitar por modelos biologicistas, centrados en las necesidades biológicas (¡tan importantes!) y materiales, así como en las psicológicas. Pero considerar que el destinatario de la atención es una persona, no termina de calar en sus implicaciones de acogida hogareña.

Afortunadamente van surgiendo reclamos de humanización, reclamos de la importancia de la hospitalidad compasiva, como referente ético, que evoca la experiencia de que “nada humano me es ajeno” y que despliega una nueva responsabilidad empática, una nueva manera de concebir la acogida en los procesos asistenciales y de cuidados físicos o psicológicos.

Pero todavía nos queda mucho por recorrer en la necesaria humanización de las instituciones y los modelos de ayuda en la vulnerabilidad humana. Convertir el hospital en un hogar, la residencia de mayores en una casa acogedora, la atención psicológica en un cuidado personalizado, es un reto por el que cada vez más personas se apasionan.

Hospitalidad hogareña

Lévinas define la hospitalidad como la acogida de aquel diferente a mí. Y la acogida es una práctica que requiere el reconocimiento de las necesidades del otro, de su dignidad y su diversidad. La acogida puede considerarse como tal cuando el ser humano es tratado como un fin en sí mismo y no es cosificado. Quizás por eso, Javier Gafo evocaba como primer problema ético en el mundo de la salud la deshumanización, y refería como contenido básico de la misma, la despersonalización en la relación.

Al ejercer la hospitalidad compasiva, se invita al otro extraño a formar parte del propio mundo, a abandonar la esfera pública para conocer el terreno de la privacidad. En este sentido, la hospitalidad funciona como punto de intersección entre lo privado y lo público. La acogida hace que el extraño deje de ser extraño y el que acoge se haga con la rica extrañeza de la vida y la considere como oportunidad de aprendizaje.

Entre el otro extraño y el huésped nace un vínculo de afecto como consecuencia de la hospitalidad, una *relación de ayuda* que Laín Entralgo llamará “amistad médica”, que hace al anfitrión más vulnerable y nos llevará por eso a utilizar la metáfora del *sanador herido*. Si la hospitalidad compasiva se produce, ambos protagonistas se expresan con libertad y el encuentro resultante altera positivamente la identidad de ambos.

En el esfuerzo que Torralba hace de aproximación al concepto de hospitalidad, afirma que la hospitalidad puede definirse como “el movimiento extático que realiza el anfitrión con respecto al huésped y que tiene como finalidad la superación de los prejuicios, la recepción y la escucha del otro y la metamorfosis del otro extraño en el tú familiar”; es, en el fondo, el esfuerzo del movimiento inicial de la actitud empática.

Centrándonos en la finalidad de una institución o servicio de ayuda en la enfermedad, sea hospitalario, de acompañamiento en counselling (Centro de Escucha), centro de servicios sociales, etc., consiste en salir al paso y paliar las formas de vulnerabilidad del ser humano. Se trata de suplir el propio hogar cuando la vulnerabilidad impide estar en él. Por eso, la clave de control de calidad de estos servicios sería la pregunta: “¿Te has sentido como en casa?” Y la respuesta debería

Ética Humanismo y Sociedad

oscilar en dos enfoques de la pregunta: a nivel de atención personal y a nivel de disponibilidad del espacio.

Escucha acogedora

La acogida de la hospitalidad exige que uno esté atento incesantemente a la meteorología del corazón del otro. La experiencia de sentirse o no acogido está relacionada con diferentes variables y sentidos. Hay una acogida espacial, una acomodación al universo del lenguaje, una acogida en la intimidad del corazón...

No habrá palabra oportuna y hospitalaria si no está profundamente arraigada en la gran clave de la hospitalidad, que es la escucha activa en la que se encarna el comportamiento compasivo y la empatía terapéutica. Sentirse escuchado, comprendido en el mundo de los sentimientos, ser captado en el voltaje emocional con que uno vive, ser visto con el ojo del espíritu, son frutos de la hospitalidad compasiva. Entre el anfitrión y el huésped, el juego de miradas revelará la calidad del contacto (visual) que estamos dispuestos a tener, la calidad de la comunicación que pretendemos desplegar en la acogida.

Acoger es un arte. Uno percibe inmediatamente si hay disposición a la acogida en el otro. Como también percibe si molesta, si tiene que hacer un esfuerzo acelerado por acomodarse a las normas del lugar y de las personas que están allí donde llega. Los mensajes suelen ser percibidos de manera

clara: “eres bienvenido” o bien “molestas y te tendrás que amoldar”.

Los seres humanos disponemos de dos hermosas antenas parabólicas llamadas orejas (patenas me gusta a mí llamarlas), para disponernos a recibir la experiencia única de quien llega. Así, ser escuchado es sentir una entrañable acogida para el mundo más íntimo y personal, ser comprendido en la especificidad de la propia experiencia, hacer experiencia de la terapia de la solidaridad emocional. No se consigue con la frase hecha, por muy cariñosamente que se pronuncie o estudiada y dibujada de sonrisa que esté. El interés de una persona por otra se percibe por la autenticidad de los modos.

Y es que, el corazón también tiene heridas que esperan ser vendadas con las vendas de la mirada, con el suave ungüento del contacto físico, con la palabra y el tono calibrados adecuadamente, con la proximidad generada por todos los sentidos transformados en terapia eficaz para la enfermedad de la exclusión o del sentirse foráneo en el mundo.

Quien es acogido nunca viene con “las manos vacías”. El que pide posada -de cualquier tipo que sea- nos regala la posibilidad de desarrollar nuestra humanidad. Acoger ayuda a crecer al que acoge. Escuchar ayuda a humanizarse al que escucha. Mirar bien sana la vista del que mira. Aliviar al prójimo ennoblece al galeno. Cuidar nos hace humanos. Y esta oportunidad la da el huésped que, con su vulnerabilidad, se hace fuerte ante la aparente fuerza del posadero. Somos todos sanadores heridos que, en el encuentro, tenemos la posibilidad de crecer.

Historia de la Endocrinología

Willy Gepts (1922-1991)

Nacido en 1922, Willy Gepts creció en Amberes y estudió medicina en la Universidad Libre de Bruselas, Bélgica, donde obtuvo el título de MD en el año 1946. Fue un excelente estudiante y aprendiz y tuvo la oportunidad de combinar el trabajo clínico con la investigación en la escuela del profesor Paul Bastenie, donde investigó la morfología del páncreas endocrino en distintos modelos de enfermedad.

En 1965 fue nombrado profesor de Patología en la nueva sección flamenca de la Universidad Libre de Bruselas (ULB), y en 1969 se convirtió en jefe del Departamento de Patología del Hospital Universitario Brugmann. A medida que el número de estudiantes en la sección de flamenco aumentaba, Gepts y unos pocos colegas tomaron la iniciativa de crear y construir una organización flamenca independiente Universidad Libre de Bruselas, la VUB, con su propio campus. Sus investigaciones lo destacaron desde sus inicios como un extraordinario patólogo que era consultado a diario desde el extranjero para la descripción de casos problemáticos.

Realizó sus estudios más importantes en páncreas endocrino donde logró renombre internacional y desarrollo múltiples trabajos experimentales que lo destacaron universalmente. Fue el primer patólogo en entregar descripciones detalladas sobre la estructura de los islotes en la diabetes. Su trabajo más reconocido fue sin duda alguna la descripción del proceso de insulinitis en la diabetes tipo 1 (DM1), un hallazgo cuyas repercusiones cambiaron el enfoque de estudios incorporando hasta la actualidad el proceso inflamatorio que subyace al desarrollo de la DM1.



Entre 1970 y 1980 comenzó un laboratorio de Patología Experimental comprometidos con la exploración morfológica del páncreas humano y los correspondientes modelos experimentales. Sus colaboradores y estudiantes siempre lo definieron como trabajador, perfeccionista y exigente. En el año 1977 fue elegido miembro de la Real Academia Belga de Medicina.

Eminente patólogo que identificó las alteraciones morfológicas de los distintos tipos de diabetes, describió la insulinitis en la DM1 identificándola como una enfermedad autoinmune.

Entre sus destacadas funciones, presidió la Asociación Europea para el Estudio de la Diabetes (EASD) durante el período 1980-1983.

*Dr. Francisco Pérez B.
Editor*

Comentarios de Bioestadística

Concordancia Parte I: La estadística Kappa

Gabriel Cavada Ch.^{1,2}¹Facultad de Medicina, Universidad de los Andes.²División de Bioestadística, Escuela de Salud Pública, Universidad de Chile.

Concordance Part I: The Kappa statistic

En cualquier protocolo de investigación biomédica, un aspecto fundamental, es guardar la confiabilidad de los procedimientos de medida. Este aspecto no puede ser subsanado por ningún diseño de investigación, de modo que es un aspecto que debe cuidarse desde el comienzo del desarrollo de la idea de investigación.

En este aspecto, un punto muy recurrente es el error de medida que se produce entre dos o más observadores, es decir la variabilidad de la medida debido a este hecho.

Así, un punto crucial es controlar o medir la variabilidad de una medida debida a que esta se hace por más de un observador.

En este sentido, dos aspectos distintos forman parte el estudio de fiabilidad: el sesgo entre observadores entendido como la tendencia de un observador a leer consistentemente valores mayores que otro. Y la concordancia entre observadores, es decir, hasta dónde los observadores coinciden en su medición.

Este último aspecto depende de la naturaleza de los datos (continuos o categóricos), en este artículo se abordará la concordancia entre medidas categóricas. Este objetivo, clásicamente se resuelve utilizando la estadística Kappa.

La estadística Kappa

Supongamos que dos observadores, en forma independiente, clasifican a "n" sujetos de estudio en C categorías excluyentes, así las frecuencias de coincidencia o no coincidencias se pueden resumir en la siguiente tabla:

Tabla 1.

	Observador 1				
	X ₁	X ₂	...	X _c	Total
Observador 2	X ₁	X ₁₁	X ₁₂	X _{1c}	n _{1.}
	X ₂	X ₂₁	X ₂₂	X _{2c}	n _{2.}
	...				
	X _c	X _{c1}	X _{c2}	X _{cc}	n _{c.}
Total	n _{.1}	n _{.2}	...	n _{.c}	n

Esta tabla se puede reescribir en términos de proporciones, donde cada celda es transformada a proporción mediante:

$$P_{ij} = \frac{X_{ij}}{n}$$

Y cada total marginal llevado a proporción es:

$$P_i = \frac{P_i}{n}$$

Así la tabla 1 se transforma en:

Tabla 2.

	Observador 1				
	X ₁	X ₂	...	X _c	Total
Observador 2	X ₁	P ₁₁	P ₁₂	P _{1c}	P _{1.}
	X ₂	P ₂₁	P ₂₂	P _{2c}	P _{2.}
	...				
	X _c	P _{c1}	P _{c2}	P _{cc}	P _{c.}
Total	P _{.1}	P _{.2}	...	P _{.c}	1

Notamos que si la concordancia fuera completa, las proporciones de la diagonal (marcadas en letra cursiva) sumarían la unidad, es decir:

$$\pi = \sum_{i=1}^c P_{ii} = 1$$

Es claro que $0 \leq \pi \leq 1$. Por otra parte, como se está asumiendo que los observadores son independientes, la probabilidad de coincidencia por azar para cada celda de la diagonal estará dada por:

$$P_i = P_{.i} P_{i.}$$

Comentarios de Bioestadística

Esto es la multiplicación de cada probabilidad marginal.

Con estos conceptos presentamos la fórmula del estadístico Kappa:

$$\kappa = \frac{\sum_{i=1}^c P_{ii} - \sum_{i=1}^c P_{.i} \sum_{i=1}^c P_{i.}}{1 - \sum_{i=1}^c P_{.i} P_{i.}}$$

La máxima concordancia posible corresponde a $\kappa = 1$. El valor $\kappa = 0$ se obtiene cuando la concordancia observada es precisamente la que se espera a causa exclusivamente del azar. Si la concordancia es mayor que la esperada simplemente a causa del azar, $\kappa > 0$, mientras que si es menor, $\kappa < 0$. El mínimo valor de κ depende de las distribuciones marginales.

Para interpretar el valor de κ es útil disponer de una escala como la siguiente en que se han convenido los siguientes valores:

Valor de κ	Nivel de concordancia
< 0,20	Pobre
0,21 – 0,40	Débil
0,41 – 0,60	Moderada
0,61 – 0,80	Buena
0,81 – 1,00	Muy buena

Por ejemplo, supongamos que dos radiólogos informan 100 imágenes ecográficas de la glándula tiroides, obteniéndose la siguiente información:

Radiólogo 2	Radiólogo 1			
	Anormal	Dudosa	Normal	
Anormal	18	4	3	25
Dudosa	1	10	5	16
Normal	2	4	53	59
	21	18	61	100

La salida del análisis de concordancia en STATA versión 12, es la siguiente:

Agreement	Expected Agreement	Kappa	Std. Err.	Z	Prob > Z
81,00%	44,12%	0,6600	0,0738	8,94	0,0000

Es decir se observa un acuerdo del 81%, el acuerdo esperado por azar es de 44,12%, el valor del índice K es 0,66 y es significativamente mayor que 0 (p-value = 0,0000), de acuerdo a la escala de valoración de K, se está en presencia de una buena concordancia.

Calendario de Cursos, Simposios y Congresos

"VI Curso Endocrinología y Diabetes para Médicos No Especialistas"

Fecha: 10 y 11 de mayo de 2013

Lugar: Auditorio Edificio Movistar (ex Telefónica). Santiago

Directores: Dr. Sergio Majlis, Dr. Juan Patricio Valderas

Inscripciones: soched@soched.cl

"Curso Actualización en Endocrinología y Diabetes"

Fecha: 3 y 4 de mayo de 2013

Lugar: Auditorio Hospital Clínico de Magallanes

Caja de Compensación La Araucana Puerto Natales

Directores: Dr. Gilberto González, Dr. Carlos Stehr Gesche, Dr. Cristián Fernández

Inscripciones: sociedadmedica@gmail.com

<http://www.facebook.com/sociedad.demagallanes>

"Curso Tejido adiposo como órgano endocrino: Desde las ciencias fundamentales a la clínica"

Fecha: 23 y 24 de agosto de 2013

Lugar: Centro de Eventos Manquehue, Av. Vitacura N° 5841, Santiago.

Directores: Dra. Teresa Sir-Petermann, Dr. José Galgani, Dr. Francisco Pérez B.

Inscripciones: soched@soched.cl

"XXIV Congreso Chileno de Endocrinología y Diabetes"

Fecha: 7 al 9 de noviembre 2013

Lugar: Hotel Sheraton Miramar, Viña del Mar

Secretaría Ejecutiva: Dra. Victoria Novik A.

Inscripciones: www.soched.cl

Direcciones electrónicas de Sociedades Científicas

- **ETA** (European Thyroid Association)
www.eurothyroid.com
- **LAST** (Latin America Thyroid Society)
www.last.org
- **ATA** (American Thyroid Society)
www.thyroid.com
- **AACE** (American Association of Clinical Endocrinologists)
www.aace.com
- **The Endocrine Society**
www.endo-society.org
- **EANM** (European Association of Nuclear Medicine)
www.eanm.org
- **SAEM** (Sociedad Argentina de Endocrinología y Metabolismo) www.saem.org.ar
- **SNM** (Society of Nuclear Medicine)
www.snm.org
- **AAES** (American Association of Endocrine Surgeons)
www.endocrinesurgery.org
- **AHNS** (American Head and Neck Society)
www.headandneckcancer.org

Guía de exigencias para los manuscritos

EL AUTOR RESPONSABLE DEBE MARCAR SU CONFORMIDAD APROBATORIA EN CADA CASILLERO. TODOS Y CADA UNO DE LOS AUTORES DEBEN IDENTIFICARSE Y FIRMAR EL DOCUMENTO.

AMBOS DOCUMENTOS DEBEN SER ENTREGADOS JUNTO CON EL MANUSCRITO

1. ☐ Este trabajo (o partes importantes de él) es inédito y no se enviará a otras revistas mientras se espera la decisión de los editores de la Revista Chilena de Endocrinología y Diabetes.
2. ☐ El texto está escrito usando espacios de 1,5 pts., letra Time New Roman, tamaño 12, en hojas tamaño carta, numeradas secuencialmente.
3. ☐ El Título del trabajo se presenta en idioma castellano e inglés.
4. ☐ Los autores son presentados por su nombre, apellido paterno y en algunos casos inicial el apellido materno. El autor responsable ha sido identificado, incluyendo teléfono, fax y dirección electrónica.
5. ☐ Se explicita el lugar de pertenencia de cada uno de los autores al tiempo en que se realizó el trabajo.
6. ☐ Se explicita la presencia o ausencia de situaciones que signifiquen conflicto de intereses. Si las hay se explican las razones involucradas.
7. ☐ Se explica la o las fuentes de financiamiento del trabajo.
8. ☐ Se ha respetado el límite máximo de palabras permitido por esta Revista: 2.500 palabras para los "Artículos de Investigación"; 1.500 palabras para los "Casos Clínicos"; 3.500 palabras para los "Artículos de Revisión", 1.000 palabras para "Cartas al Editor".
9. ☐ Se ha respetado el uso correcto de abreviaturas
10. ☐ Se han seleccionado de 3 a 5 palabras claves en español e inglés.
11. ☐ a) Incluye un Resumen de hasta 300 palabras, en castellano.
b) Incluye traducción al inglés del Resumen (opcional).
12. ☐ Las citas bibliográficas, libros, revistas o información electrónica, se presentan de acuerdo al formato exigido por la Revista Chilena de Endocrinología y Diabetes, el cual se explicita en las Instrucciones a los Autores.
13. ☐ Las referencias incluyen sólo material publicado en revistas de circulación amplia, o en libros. Estas referencias no incluyen trabajos presentados en congresos u otras reuniones científicas, publicados bajo la forma de libros de resúmenes.
14. ☐ a) Si este estudio comprometió a seres humanos o animales de experimentación, en "Sujetos y Métodos" se deja explícito que se cumplieron las normas éticas exigidas.
b) Se adjunta el certificado del Comité de Ética institucional que aprobó la ejecución del protocolo.
15. ☐ La escritura del trabajo fue organizada de acuerdo a las "Instrucciones a los Autores", y se adjuntan 3 copias del manuscrito completo, incluyendo fotografías, y una versión electrónica en CD.
16. ☐ Las Tablas y Figuras se prepararon considerando la cantidad de datos que contienen y el tamaño de letra que resultará después de la necesaria reducción en imprenta.
17. ☐ Si se reproducen Tablas o Figuras tomadas de otras publicaciones, se adjunta autorización escrita de sus autores o de los dueños de derechos de publicación, según corresponda.
18. ☐ Las fotografías de pacientes y las Figuras (radiografías, etc.) respetan el anonimato de las personas involucradas en ellas. Se adjunta el consentimiento informado de los pacientes o de su representante legal, para la publicación de fotografías que incluyan la cara.
19. ☐ Se indican números telefónicos, de fax y el correo electrónico del autor que mantendrá contacto con la Revista.

Nombre completo y firma del autor que se relacionará con la revista:

Teléfono: _____ Fax: _____ E-mail: _____

Declaración de la responsabilidad de autoría

El siguiente documento debe ser completado por todos los autores del manuscrito. Si es insuficiente el espacio para las firmas de todos los autores, agregar fotocopias de esta página.

TÍTULO DEL MANUSCRITO _____

DECLARACIÓN: Certifico que he contribuido directamente al contenido intelectual de este manuscrito, a la génesis y análisis de sus datos, por lo cual estoy en condiciones de hacerme públicamente responsable de él y acepto que mi nombre figure en la lista de autores.

En la columna “Códigos de Participación” he anotado personalmente todas las letras de códigos que identifican mi participación en este trabajo, según la Tabla siguiente:

Tabla: Códigos de Participación

- a. Concepción y diseño del trabajo.
- b. Aporte de pacientes o material de estudio.
- c. Recolección y/o obtención de resultados.
- d. Obtención de financiamiento.
- e. Análisis e interpretación de los datos.
- f. Asesoría estadística.
- g. Redacción del manuscrito.
- h. Asesoría técnica o administrativa.
- i. Revisión crítica del manuscrito.
- j. Otras contribuciones (explicitar).
- k. Aprobación de la versión final.

Nombre y firma de cada autor	Códigos de participación
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____
_____	_____

Envío de manuscritos:

Los trabajos deben enviarse directamente a:

REVISTA CHILENA DE ENDOCRINOLOGIA Y DIABETES

Bernarda Morin 488, 3° Providencia

Santiago - Chile

Vía correo electrónico a: revendodiab@soched.cl

Abreviaturas

Revista Chilena de Endocrinología y Diabetes

La lista siguiente señala las abreviaturas o siglas más usadas internacionalmente que identifican unidades de medida, procedimientos, instituciones, etc. Estas abreviaturas o siglas se deben usar en el texto, tablas y figuras de los manuscritos enviados para su publicación en la revista. En los títulos y en la primera aparición en el resumen use la denominación completa y no su abreviación.

Término	Abreviatura o Sigla	Término	Abreviatura o Sigla
Ácido desoxi-ribonucleico	DNA	Hora	h
Ácido ribonucleico	RNA	Hormona Antidiurética	ADH
Ácido 5-hidroxi-indol-acético	5-HIAA	Hormona de Crecimiento, Somatotropina	HC
Actividad de renina plasmática	PRA	Hormona Estimulante de Melanocitos	MSH
Adenosina 5' monofosfato, bifosfato, trifosfato	AMP, ADP, ATP	Hormona Folículo Estimulante	FSH
Adrenocorticotropina	ACTH	Hormona Liberadora de ACTH	CRH
Adrenalina, Epinefrina	E	Hormona Liberadora de Gonadotropinas	GnRH, LHRH
Análisis de Varianza	ANOVA	Hormona Liberadora de TSH	TRH
Anticuerpos	Ac	Hormona Luteinizante	LH
Anticuerpos anti peroxidasa	Ac TPO	Hormona Paratiroidea	PTH
Antígeno carcino-embriionario	CEA	Hormona Liberadora de GH	GHRH
Calcitonina	CT	Immunoglobulina	Ig
Centi- (prefijo)	c	Interferón	IFN
Centímetro	cm	Interleukina	IL
Concentración de renina plasmática	PRC	Intramuscular	im
Cortisol	F	Intravenoso	iv
Corticosterona	B	Kilo- (prefijo)	k
Cromatografía líquida de alta resolución	HPLC	Kilogramo	kg
Cuentas por minuto	cpm	Litro	l
Cuentas por segundo	cps	Metro	m
Curie	Ci	Micro- (prefijo)	μ
Deci- (prefijo)	d	Mili- (prefijo)	m
Dehidro Testosterona	DHT	Milímetro cúbico	mm ³
Deoxicorticosterona	DOC	Minuto	min
Desintegraciones por minuto	dpm	Molar	M
Desintegraciones por segundo	dps	Mole	mol
Desviación Estándar	DS	Nano- (prefijo)	n
Día	d	No Significativo (término estadístico)	NS
Dopamina, Dihidroxifenilalanina	DOPA	Noradrenalina, Norepinefrina	NE
Ensayo inmuno enzimático en fase sólida	ELISA	Número de observaciones (término estadístico)	n
Equivalente	Eq	Osmol	osmol
Error Estándar	SE	Osteocalcina	OC
Error Estándar de la Media	SEM	PCR por trascripción reversa	RT-PCR
Estradiol	E2	Péptido Relacionado a PTH	PTHrP
Estriol	E3	Pico- (prefijo)	p
Estrona	E1	Probabilidad (término estadístico)	p
Factor de Crecimiento Simil a Insulina	IGF	Progesterona	P
Factor de Transformación de Crecimiento	TGF	Prolactina	PrI
Factor de Necrosis Tumoral	TNF	Promedio (término estadístico)	$\bar{x}$
Fosfatasas ácidas	F Ac	Radioinmunoanálisis	RIA
Fosfatasas alcalinas	F Al	Reacción de polimerasa en cadena	PCR
Globulina Transportadora de Corticosteroides	CBG	Revoluciones por minuto	rpm
Globulina Transportadora de Hormonas Sexuales	SHBG	Recién nacido	RN
Globulina Transportadora de Hormonas Tiroideas	TBG	Resonancia Magnética	RM
Grado Celsius	°C	RNA de Ribosomas	rRNA
Gramo	g	RNA Mensajero	mRNA

Abreviaturas

Término	Abreviatura o Sigla	Término	Abreviatura o Sigla
Segundo	s	Virus de Inmunodeficiencia Humana	VIH
Semana	sem	Vitamina D2, Ergocalciferol	Vit D2
Síndrome de Inmuno Deficiencia Adquirida	SIDA	Vitamina D3, Colecalciferol	Vit D3
Sistema Nervioso Central	SNC	1,25-dihidroxi-vitamina D2,	1,25 (OH)2 D2
Somatostatina	SS	1,25-dihidroxi-ergocalciferol	1,25 (OH)2 D2
Subcutáneo	sc	1,25-dihidroxi-vitamina D3,	1,25 (OH)2 D3
Sulfato de Dehidro Epi Androsterona	DHEA-S	1,25-dihidroxi-colecalciferol	1,25 (OH)2 D3
Testosterona	T	3,5,3'-triyodotironina	T3
Tiroglobulina	Tg	3,3,5'-triyodotironina, T3 reversa	rT3
Tirotropina	TSH	3',5'-adenosina monofosfato cíclico	cAMP
Tiroxina	T4	17-hidroxi progesterona	17OHP
Tiroxina Libre	T4L	25-hidroxi-vitamina D2	25OHD2
Tomografía Axial Computarizada	TAC	25-hidroxi-ergocalciferol	25OHD2
Tuberculosis	TBC	25-hidroxi-vitamina D3	25OHD3
Ultravioleta	UV	25-hidroxi-colecalciferol	25OHD3
Unidad Internacional	IU	24,25-dihidroxi-vitamina D3	24,25 (OH)2 D3
Valor Normal o de referencia	VN	24,25-dihidroxi-colecalciferol	24,25 (OH)2 D3
Velocidad de Sedimentación Eritrocítica	VHS		
Versus	vs		

Abreviaturas de Instituciones

American Diabetes Association	ADA
Food and Drug Administration (EEUU)	FDA
Instituto de Salud Pública (Chile)	ISP
Ministerio de Salud (Chile)	MINSAL
Nacional Institute of Health (EEUU)	NIH
Organización Mundial de la Salud	OMS
Organización Panamericana de la Salud	OPS
Sociedad Chilena de Endocrinología y Diabetes	SOCHED

Nótese que a ninguna abreviatura o sigla se le agrega "s" para indicar plural.

